

Aus dem Johannes – Müller – Institut für Physiologie  
der Medizinischen Fakultät Charité  
der Humboldt-Universität zu Berlin

## **DISSERTATION**

**Eine elektrophysiologische Studie zum Einfluss von Serotonin, den  
5-HT-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT und DOI sowie dem Neuropeptid CCK-8S  
auf die Entladungsrate neostriataler Neurone narkotisierter Ratten**

**Zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)**

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité  
der Humboldt-Universität zu Berlin

von  
Karina Wilms  
aus Zagan

Dekan: Prof. Dr. Joachim W. Dudenhausen

Gutachter:   1. Frau Prof. Dr. H. Davidowa  
                  2. Frau Prof. Dr. H. Fink  
                  3. Herr Prof. Dr. U. Misgeld

Datum der Promotion: 04.07.2002

Eingereicht im Dezember 2001

## Abstract (deutsch)

An mit Urethan narkotisierten männlichen „Wistar“-Ratten erfolgte die extrazelluläre Einzelableitung der Aktionspotenziale von insgesamt 159 striatalen Neuronen. Mit Hilfe einer Mehrkanalelektrode wurden in die Nähe der Zellen mikroiontophoretisch verschiedene Substanzen appliziert. Die separate Gabe von Serotonin (5-HT), dem 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT und dem sulfatierten Oktapeptid Cholezystokinin (CCK-8S) führte überwiegend zur Erhöhung der neuronalen Entladungsraten (Wilcoxon-Test signifikant mit  $p < 0,05$ ), wohingegen der 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptoragonist DOI nur an wenigen Neuronen einen Effekt induzierte, der hauptsächlich aus einer Reduktion der Entladungsraten bestand. Nach Koapplikation von Serotonin und CCK-8S überwogen ebenfalls aktivierende Effekte ( $Wt\ p < 0,05$ ), jedoch wurde die neuronale Responsivität im Vergleich zur Einzelapplikation der beiden Substanzen signifikant reduziert ( $\chi^2\ p < 0,01$ ). Da die Serotonin- bzw. 8-OH-DPAT-induzierten Effekte durch die spezifischen 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorantagonisten WAY 100635 und S-UH 301 geblockt wurden und eine positive Korrelation der Serotonin- bzw. 8-OH-DPAT-Effekte ( $p < 0,05$ ) nachgewiesen werden konnte, kann, trotz der entgegengesetzten Ergebnisse früherer Studien, das Vorhandensein von 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren im Neostriatum angenommen werden. Die Grundaktivität der durch Serotonin aktivierten Population war signifikant geringer ( $p > 0,05$ ) als die der durch Serotonin gehemmten Neurone. Trotzdem zeigte sich keine Abhängigkeit der Responsivität der hier betrachteten Populationen auf die applizierten Serotoninagonisten von der Höhe der neuronalen Ruheentladungsrate. Die meisten der Serotonin-, 8-OH-DPAT-, DOI- bzw. CCK-8S-responsiven Neurone verteilten sich diffus über das gesamte Neostriatum. Nur die durch Serotonin aktivierte Population zeigte eine Präferenz der ventromedialen Bereiche des Neostriatum.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Studie die Existenz von 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren innerhalb des Neostriatum der Ratte in hohem Maße angenommen werden kann. Des Weiteren lässt sich vermuten, dass das Zusammenwirken von Serotonin und CCK-8S einen modulatorischen Einfluss auf die normale neuronale Funktion hat. Ob und in welchem Maße dieses letztgenannte Ergebnis eine therapeutische Relevanz zur Behandlung bestimmter Erkrankungen hat, bei denen Störungen im Neostriatum mit ursächlich sind, bleibt zu erforschen.

## **Schlagworte**

Serotonin

8-OH-DPAT

DOI

Neostriatum

WAY 100635

S-UH 301

Cholezystokinin

## Abstract (english)

In rats anaesthetized with urethane single unit activity of 159 neostriatal neurones was extracellularly recorded and several drugs were microiontophoretically ejected. Separate administration of serotonin (5-HT), 8-OH-DPAT (a 5-HT<sub>1A/7</sub>-receptor-agonist) and the sulfated octapeptide cholecystokinin (CCK-8S) predominantly induced increases in the neuronal discharge rates (Wilcoxon test significant with  $p < 0,05$ ), whereas the 5-HT<sub>2A/2C</sub>-receptor agonist DOI affected only a few neurones and mainly reduced firing. After coadministration of CCK-8S and serotonin activating effects also predominated (Wt  $p < 0,05$ ), but the neuronal responsiveness was significantly reduced ( $\chi^2$   $p < 0,05$ ). The block of serotonin- or 8-OH-DPAT-effects through specific 5-HT<sub>1A/7</sub>-receptor-antagonists (WAY 100635 and S-UH 301) and the positive correlation ( $p < 0,05$ ) of the serotonin- and 8-OH-DPAT-induced neuronal effects, implies the involvement of this receptor subtype within the rat neostriatum. This latter fact mainly has been denied in previous studies. The basic firing activity of the population activated through serotonin was significantly lower than that of the neurones inhibited by serotonin. Nevertheless, the intensity of the basic firing activity had no influence on the responsiveness to the applied serotonin-receptor-agonists in all relevant populations of the present study. Most of the neurones, that were responsive to serotonin, 8-OH-DPAT, DOI and CCK-8S showed a diffuse distribution within the neostriatum. Only the neurones, which were activated through serotonin preferred the ventromedial regions of the rat neostriatum.

In conclusion, because of the results of the present study the existence of the 5-HT<sub>1A</sub>-receptor-subtype within the neostriatum of rats can be presumed to a great degree. Furthermore, concomitant action of serotonin and CCK-8S induces a mean level of neuronal activation that might modulate normal neuronal function. How far the latter fact has a therapeutical relevance in view of different psychiatric disorders, which are partially caused by disturbances of the neostriatum, remains to be investigated.

## **Keywords**

serotonin  
8-OH-DPAT  
DOI  
neostriatum  
WAY 100635  
S-UH 301  
cholecystokinin

## **Inhaltsübersicht**

<b>Abstract (deutsch)</b>	<b>i</b>
<b>Schlagworte</b>	<b>ii</b>
<b>Abstract (english)</b>	<b>iii</b>
<b>Keywords</b>	<b>iv</b>
<b>1. Einleitung</b>	
<b>1.1. Das Striatum</b>	
1.1.1. Das Striatum als Bestandteil der Basalganglien – morphologische und funktionelle Betrachtungen	<b>1</b>
1.1.2. Übersicht über die Afferenzen und Efferenzen des Striatum	<b>2</b>
1.1.3. Mikroanatomische und funktionelle Charakteristika des Striatum	<b>4</b>
1.1.4. Die verschiedenen Neurotransmitter des Striatum	<b>6</b>
1.1.5. Serotonin	
1.1.5.1. Vorkommen und Funktionen im gesamten Organismus	<b>7</b>
1.1.5.2. Transmissionsmechanismen und Vorkommen der Rezeptorsubtypen	<b>10</b>
1.1.5.3. Interaktionen innerhalb des ZNS	<b>12</b>
1.1.6. Cholecystokinin im ZNS	<b>13</b>
<b>2. Ziel- und Fragestellungen</b>	<b>15</b>
<b>3. Material und Methodik</b>	
<b>3.1. Versuchstiere und Haltung</b>	<b>18</b>
<b>3.2. Angewandte Substanzen</b>	<b>18</b>
<b>3.3. Versuchsvorbereitung</b>	

3.3.1. Vorbereitung des Versuchstieres	20
3.3.2. Herstellung und Füllung der Elektroden	20
<b>3.4. Versuchsdurchführung</b>	<b>21</b>
<b>3.5. Histologische Auswertung</b>	<b>25</b>
<b>3.6. Computergestützte statistische Datenverarbeitung</b>	<b>25</b>
<b>3.7. Kritische Betrachtung der Methodik</b>	<b>27</b>

## **4. Ergebnisse**

<b>4.1. Die der Studie zugrunde liegende Datenpopulation</b>	<b>29</b>
<b>4.2. Der Einfluss von Serotonin auf die untersuchten striatalen Neurone</b>	<b>29</b>
4.2.1. Zusammenhang zwischen der Höhe der Grundaktivität und der Responsivität der Zellen auf Serotonin	33
<b>4.3. Bestimmung der an den serotoninerger Wirkungen beteiligten striatalen Rezeptorsubtypen</b>	
4.3.1. Wirkung des 5-HT <sub>1A/7</sub> -Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT auf die neuronale Entladungsrate	35
4.3.1.1. Zusammenhang zwischen der Höhe der Grundaktivität und der Responsivität der Zellen auf 8-OH-DPAT	40
4.3.2. Wirkung der 5-HT <sub>1A</sub> -Rezeptorantagonisten WAY 100635 und S-UH 301 auf die 8-OH-DPAT – induzierten Effekte	42
4.3.3. Wirkung des 5-HT <sub>2A/2C</sub> -Rezeptoragonisten DOI auf die neuronale Entladungsrate	47
4.3.3.1. Die Höhe der Grundaktivität und die jeweilige Responsivität der Zellen auf DOI	50
4.3.4. Wirkung des 5-HT <sub>2A/2C</sub> -Rezeptorantagonisten Ketanserin auf die DOI-vermittelten Effekte	50
4.3.5. Serotonin, 8-OH-DPAT und DOI – eine gemeinsame Betrachtung	51



<b>4.4. Überblick über die Lokalisation der untersuchten striatalen Neurone</b>	<b>53</b>
4.4.1. Lokalisation der mit Serotonin untersuchten Neurone	54
4.4.2. Lokalisation der mit 8-OH-DPAT getesteten Neurone	55
4.4.3. Lokalisation der mit DOI getesteten Neurone	57
<b>4.5. Darlegung der gemeinsamen Wirkung von CCK 8S und Serotonin         auf die Neurone des Striatum</b>	<b>59</b>
4.5.1. Lokalisation der mit CCK-8S und Serotonin geprüften Neurone	62
<b>5. Diskussion</b>	
5.1. Die Effekte von Serotonin und daran beteiligte Rezeptorsubtypen	64
5.2. Lokalisation der untersuchten Neurone	71
5.3. CCK-8S und Serotonin im Striatum	75
<b>6. Zusammenfassung</b>	<b>80</b>
<b>7. Literaturverzeichnis</b>	<b>84</b>
▪ Liste bisheriger Veröffentlichungen und Kongressbeiträge	v
▪ Eidesstattliche Erklärung	vi
▪ Danksagung	vii
▪ Abkürzungsverzeichnis	viii
▪ Lebenslauf	ix

# **1. Einleitung**

## **1.1. Das Striatum**

### **1.1.1. Das Striatum als Bestandteil der Basalganglien - morphologische und funktionelle Betrachtungen**

In der Tiefe der beiden Hemisphären des Telencephalon bilden innerhalb der weißen Substanz große graue Kernmassen das sogenannte Striatum. Die zu dem ausgedehnten Komplex der Basalganglien gehörende Struktur wird in das Neostriatum (dem Telencephalon zugehörig) und das phylogenetisch ältere Paläostriatum (als Teil des Dienzephalon), bestehend aus dem internen Segment des Globus pallidus, unterteilt. Beim Primaten werden zum neostriatalen Corpus striatum (Streifenkörper) der Nucleus caudatus sowie das Putamen und zum Nucleus lentiformis (Linsenkern), als weiteren Bestandteil des Neostriatum, ebenfalls das Putamen und das externe Segment des Globus pallidus gezählt (Duus, 1995).

Dem Begriff des „Streifenkörpers“ liegen die sich innerhalb der Capsula interna erstreckenden streifenförmigen Zellbrücken zwischen dem Putamen und dem Nucleus caudatus, welcher aus einem Caput, einem Corpus und einer Cauda besteht, zugrunde.

Im Rattenhirn fasst man die beiden Bestandteile des Corpus striatum zum sogenannten Caudato-Putamen zusammen, weil solche trennenden Strukturen wie beim Menschen bzw. bei anderen Säugern nicht vorliegen (Heimer et al., 1995). Des Weiteren entspricht dem internen Segment des Globus pallidus des Menschen der Nucleus entopeduncularis der Ratte.

Hinsichtlich der Einteilung der Basalganglien existieren unterschiedliche Meinungen. Es wird zum einen eine Gliederung in ventrale und dorsale Basalganglien und zum anderen eine Unterteilung der Basalganglien in zwei funktionelle Einheiten, den striatalen und den pallidalen Komplex, vorgenommen (Greenstein und Greenstein, 2000), wobei auf eine detaillierte Schilderung der jeweiligen dazugehörenden Strukturen verzichtet werden soll. Zudem wurde die Zugehörigkeit des dienzeptionen Nucleus subthalamicus und der mesenzeptionen Substantia nigra zu den Basalganglien beschrieben, da die beiden Strukturen, zusammen mit dem Striatum, als wichtiges übergeordnetes Glied, zum extrapyramidal-motorischen System beitragen (Duus, 1995; Heimer et al., 1995). Störungen innerhalb des motorischen Funktionskreises, z.B. nach Verletzungen, Hirninfarkten, raumfordernden Prozessen etc., äußern sich auf verschiedene Art und Weise. Je nach Läsionsgebiet können klinisch das hyperkinetisch-hypotone Syndrom vom

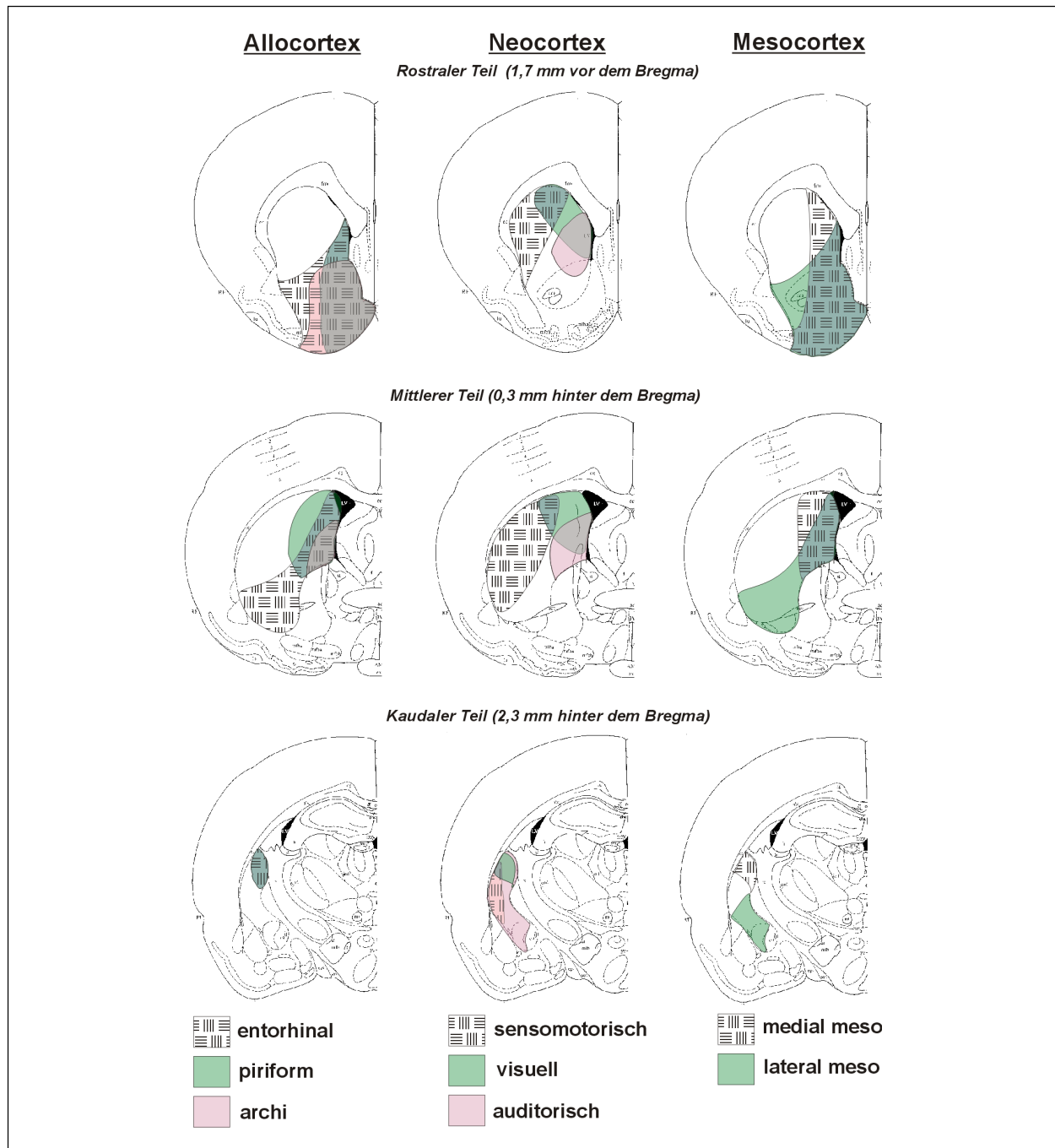
hypokinetisch–hypertonen Syndrom unterschieden werden (Duus, 1995). Letzteres entsteht bei Einschränkung der nigrostriatalen Transmission und findet sich klassischerweise im Krankheitsbild der Paralysis agitans, der Parkinson-Erkrankung, wieder. Liegen die Läsionen allerdings im Striatum oder Nucleus subthalamicus, so können Dyskinesien von athetoidem u./o. choreiformem Muster sowie ballistische Bewegungsstörungen auftreten. Am bekanntesten ist wohl die mit einem starken Substanzverlust des Striatum einhergehende autosomal dominant vererbte Chorea Huntington, aber auch die Chorea minor Sydenham, der Torticollis spasmodicus, die Torsionsdystonie, der Hemiballismus sowie die iatrogen induzierte (z.B. bei Neuroleptika-Therapie) tardive Dyskinesie zählen zum hyperkinetisch-hypotonen Syndrom. Es wird beobachtet, dass bei den genannten Erkrankungen die motorischen Störungen oft auch begleitet sind von affektiven Psychosen u./o. dem Verlust kognitiver Fähigkeiten bis hin zur Demenz (Duus, 1995; Greenstein und Greenstein, 2000), was verdeutlicht, dass die Basalganglien bzw. das Striatum auch an emotionalen und kognitiven Prozessen beteiligt zu sein scheinen. Dies kann letztlich auch aufgrund der zahlreichen Verbindungen der Basalganglien mit Strukturen des limbischen Systems angenommen werden. Auch die verschiedenen vorliegenden Publikationen dahingehend (Baxter et al., 1992; Calabresi et al., 1997; Insel, 1992) unterstützen diese Vermutung.

### **1.1.2. Übersicht über die Afferenzen und Efferenzen des Striatum**

Das Striatum, als größte vermittelnde Komponente der Basalganglien, erhält zahlreiche afferente Projektionen, verfügt dahingegen selbst nur über wenig direkte efferente Zielgebiete. Der Globus pallidus (= externes Pallidum beim Primaten), der Nucleus entopeduncularis (= internes Pallidum beim Primaten) als intrinsische Efferentationen, genauso wie die eng mit der mesenzephalen ventralen tegmental Area assoziierte Substantia nigra gehören dazu. Heimer et al. (1995) beschrieben die drei efferenten Hauptprojektionsgebiete auch als Relaisstation für die In- und Outputs des Striatum.

Die topographisch angeordneten kortikostriatalen Projektionen bilden den größten Anteil an den Afferentationen in das Striatum, wobei sie zwar bilateral ausgebildet sind, die ipsilateralen Projektionen jedoch überwiegen (Heimer et al., 1995). McGeorge und Faull (1989) führten ausgedehnte Untersuchungen zur Organisation der genannten Hauptafferenzen im Gehirn der Ratte durch und stellten dabei fest, dass die Fasern aus dem Neokortex das dorsolaterale Striatum (= Caudato-Putamen [CP]), die Fasern aus dem Mesokortex hauptsächlich das ventromediale

CP, aber auch das ventrale Striatum (= Nucleus accumbens, Tuberculus olfactorius und ventrales CP) und die allokortikalen Fasern hauptsächlich das ventrale Striatum, jedoch auch das ventromediale CP bevorzugen. Die longitudinal ausgedehnten Projektionsfelder weisen eine teilweise Überlappung auf. Anhand der in drei Ebenen dargestellten Frontalschnitte durch das Rattenhirn (aus Paxinos und Watson, 1986) in der Abbildung 1 kann man sich noch einmal einen Überblick über die kortikostriatalen Afferenzen verschaffen. Alexander et al. (1986) beschrieben fünf parallel angeordnete und funktionell unterteilte kortiko-striato-pallido-thalamo-kortikale Schleifen. Sie bezeichneten sie als motorische, okulomotorische, dorsolateral-präfrontale, lateral-orbitofrontale und anterior-zinguläre Funktionsschleifen („loops“). Allerdings gibt es auch Hinweise für eine eher konvergente Anordnung dieser „loops“ (Percheron et al., 1984). Groenewegen et al. (1990) wiesen zwar auch nach, dass zahlreiche parallele Kreise existieren, jedoch betonten sie auch, dass man diese nicht getrennt voneinander, sondern als Komponenten verschiedener integrativer Funktionen betrachten sollte. Des Weiteren wurden innerhalb des motorischen „loops“ sowohl ein direkter als auch ein indirekter striato-thalamo-kortikaler Weg unterschieden (Alexander und Crutcher, 1990). Der erstgenannte Weg führt vom zerebralen Kortex über das Striatum in den Nucleus entopeduncularis bzw. in die retikuläre Substantia nigra und geht von dort aus in den Thalamus und wieder zurück in den Kortex, wobei dabei in summa ein stimulierender Einfluss auf den Thalamus ausgeübt wird. Über den indirekten Weg, mit dem Globus pallidus und dem Nucleus subthalamicus als vorgeschaltete Komponenten erfolgt letztendlich eine tonische Inhibition des Thalamus. Die beiden antagonistisch wirkenden Schleifen sind wichtig für die Kontrolle willkürmotorischer Prozesse. Wie schon angedeutet, ist der zerebrale Kortex natürlich nicht die einzige Quelle, welche ihre Projektionsfasern, mehr oder minder topographisch angeordnet, in das Striatum sendet. Verschiedene Kerne des Thalamus, als wichtige Relaisstationen zwischen Striatum und Kortex (Groenewegen et al., 1990), gehören genauso dazu, wie der Nucleus subthalamicus sowie diverse Kerngebiete innerhalb der mesenzephalen und pontinen *Formatio reticularis*, v.a. die Substantia nigra (besonders die *pars compacta*), die retrorubrale und ventrale tegmentale Area, das mesopontine Tegmentum, einschließlich des pedunculo-pontinen Nucleus, und als weitere wichtige Region der serotoninerge Nucleus Raphe dorsalis (Heimer et al., 1995; Parent, 1990).



**Abb. 1:** Schematische Darstellung der Hauptafferenzen aus den verschiedenen kortikalen Arealen (siehe Legende) in die rostralen, mittleren und kaudalen Regionen des Striatum (modifiziert nach McGeorge und Faull, 1989)

### 1.1.3. Mikroanatomische und funktionelle Charakteristika des Striatum

Rein makroskopisch erscheint das Striatum als kompakte homogene Struktur. Führt man jedoch mikroskopische Untersuchungen durch, so erkennt man verschiedene Zelltypen innerhalb des

Caudato-Putamen (Heimer et al., 1995). Grundsätzlich werden, wie in allen Regionen des ZNS, Projektions- und Interneurone unterschieden. Mit einem Anteil von ca. 90-95 % bilden die sogenannten medium-spiny-Neurone die häufigste Zellgruppe innerhalb des Neostriatum. Mit einem Perikaryen-Durchmesser zwischen 12 und 18  $\mu\text{m}$  verfügen diese Neurone über vier bis acht Dendriten (100 bis 250  $\mu\text{m}$  lang), die im Anfangsteil relativ glattwandig sind, im weiteren Verlauf jedoch stark mit kurzen dornenartigen Ausläufern („spines“) besetzt sind. Die Axone bilden zum einen zahlreiche Kollateralen innerhalb des Striatum aus und zum anderen verlassen sie das Striatum, um direkt in das Pallidum und die Substantia nigra zu projizieren. Smith und Bolam (1990) führten detaillierte elektronenmikroskopische Untersuchungen an striatonigralen medium-spiny-Neuronen durch und stellten dabei fest, dass die afferenten Fasern aus den außerhalb des Striatum liegenden Gebieten (z.B. dopaminerge Axonendigungen aus der Substantia nigra) an den striatalen Dendriten mehr distal (v.a. an den „spines“) in Form von Boutons mündeten, die intrinsischen Fasern von Interneuronen jedoch an den proximaleren dendritischen Schäften oder am Nervenzellsoma endeten.

Des Weiteren enthält das Neostriatum große ( $\varnothing$  15-25  $\mu\text{m}$ ) und mittelgroße „aspiny“ (dornenlose) Neurone bzw. Neurone mit nur geringem Dornenbesatz, wobei den meisten die Funktion als Interneuron zugesprochen wird (Heimer et al., 1995).

Anhand histochemischer und immunhistochemischer Charakteristika, auf die nicht weiter eingegangen werden soll, lassen sich innerhalb der medium-spiny-Neurone und der Interneurone zusätzlich noch bestimmte Subpopulationen unterscheiden (Heimer et al., 1995).

Hinsichtlich der Ruheentladungsraten neostriataler Neurone beobachteten Kawaguchi et al. (1995), dass die großen cholinergen Interneurone mit einer Frequenz von 2 bis 10 Imp./s ein tonisch irreguläres Entladungsmuster aufwiesen. Die phasisch und zum Teil rhythmisch entladenden medium-spiny-Neurone dahingegen zeigten weitaus geringere Spontanaktivitäten in Höhe von 0,1 bis 3 Imp./s oder waren sogar spontan inaktiv (Wilson, 1993). Diese Studie legt folglich nahe, dass man anhand des neuronalen Spontanentladungsmusters Rückschlüsse auf den jeweils beteiligten Neuronentyp erhalten kann. Weiterhin wurde von Wilson (1993) erwähnt, dass im Gegensatz zu den großen dornenfreien („aspiny“) Nervenzellen, die medium-spiny Neurone nur schwache kortikale bzw. thalamische Inputs benötigten, um zu depolarisieren, die Höhe der EPSP's allerdings abhängig war von der Stärke der erregenden Afferenzen. Die großen Neurone reagierten nach dem „Alles-oder-Nichts“-Gesetz, d.h. es musste ein bestimmtes afferentes Stimulationsmuster vorliegen, bevor bei diesen Zellen der Schwellenwert überschritten wurde (Wilson, 1993).

Eine Besonderheit im Striatum ist die Einteilung in Matrix und Striosomen. Bei letzteren handelt es sich um unregelmäßig geformte Kompartimente innerhalb der Matrix, welche nach bestimmten histo-oder immunhistochemischen Färbetechniken (z.B. mit Acetylcholinesterase, [<sup>3</sup>H]Naloxon oder Calbindin als Markersubstanzen) von dieser abgegrenzt werden können. Die mikroskopische Anordnung dieser Striosomen (auch „patches“ genannt) offenbart verzweigte dreidimensional angeordnete Zell-Labyrinth (Heimer et al., 1995). Über die eigentliche Funktion von Matrix und Striosomen ist noch relativ wenig bekannt, allerdings gibt es Hinweise darauf, dass Rezeptorsubtypen bestimmter Neurotransmitter bzw. afferente als auch efferente Fasern eine der beiden Strukturen bevorzugen (Graybiel, 1990; Parent, 1990; Waeber und Palacios, 1994; Ward und Dorsa, 1996).

#### **1.1.4. Die verschiedenen Neurotransmitter des Striatum**

Innerhalb des Striatum konnte die Existenz verschiedener Neurotransmitter nachgewiesen werden. Dabei handelt es sich zum einen um direkt in dieser Region gebildete Substanzen und zum anderen um Transmitter aus afferenten Projektionsfasern.

Die inhibitorisch wirksame Aminosäure GABA wird in den Projektions- und den Interneuronen synthetisiert und stellt den Haupttransmitter des Striatum dar (Graybiel, 1990; Heimer et al., 1995). Calabresi et al. (1997) erwähnten das Vorhandensein von drei verschiedenen Gruppen GABAerger Interneurone, welche 1. mit Parvalbumin, 2. mit Calretinin und 3. mit Somatostatin, NADPH-Diaphorase und NO-Synthetase kolokalisiert sein sollen. Außerdem erhält das Neostriatum auch GABAerge Fasern aus dem Globus pallidus und der Substantia nigra, pars reticulata. In den striatonigralen und striatoentopeduncularen Fasern des direkten Weges ist das Tachykinin Substanz P und das Opioidpeptid Dynorphin mit GABA kolokalisiert. Hinsichtlich des indirekten striatopallidalen Weges konnte das gemeinsame Vorkommen von GABA mit dem Opioidpeptid Enkephalin beobachtet werden (Alexander und Crutcher, 1990; Graybiel, 1990). Eine weitere Gruppe innerhalb des Neostriatum (ca. 2 % der Totalpopulation) bilden die großen, cholinergen, dornenarmen bzw. -freien Interneurone (Heimer et al., 1995), mit unterschiedlicher neuromodulatorischer Wirksamkeit (Calabresi et al., 1997). Die Peptide Neurotensin, Neurokinin A und B, das Neuropeptid Y (meist kolokalisiert mit Somatostatin), LANT-6 sowie Galanin, mit jeweils unterschiedlicher Präferenz der Striosomen bzw. der Matrix, wurden beschrieben (Graybiel, 1990).

Kortikostriatale Afferenzen enthalten größtenteils die exzitatorisch wirksame Aminosäure Glutamat, dessen Wirkungen im Striatum hauptsächlich über ionotrope AMPA-Rezeptoren vermittelt werden (Calabresi et al., 1997). Denselben Transmitter erhält das Striatum auch vom Thalamus und dem Nucleus subthalamicus. Eine weitere wichtige Transmitterquelle für das Striatum sind die dopaminergen Fasern aus der Substantia nigra, pars compacta. Störungen dieses Weges rufen die in Abschnitt 1.1.1. erwähnten Störungen hervor. Verschiedene prä- und postsynaptische Dopamin- und Adenosin-Rezeptorsubtypen und Interaktionen zwischen beiden Transmittern innerhalb des Striatum wurden beschrieben (Greenstein und Greenstein, 2000). Über den Ursprung des Nukleotids Adenosin wurde jedoch nichts geäußert. Die dorsalen Raphe-Kerne senden ca. ein Drittel ihrer serotoninergen Fasern in das Striatum (Descarries et al., 1990), und das im Striatum anzutreffende Neuropeptid Cholecystokinin hat seinen Hauptursprung höchstwahrscheinlich im zerebralen Kortex, aber auch im Thalamus, in der Substantia nigra, in der hippokampalen Formation und der ventralen tegmental Area (Graybiel, 1990; Heimer et al., 1995).

### **1.1.5. Serotonin**

#### **1.1.5.1. Vorkommen und Funktionen im gesamten Organismus**

Das Monoamin Serotonin (syn.: 5-HT = 5-Hydroxytryptamin) ist eine Mediatorsubstanz, die ein ubiquitäres Vorkommen aufweist. Im tierischen Organismus findet man Serotonin sowohl in der Peripherie als auch im Zentralnervensystem.

Die essentielle Aminosäure Tryptophan ist Ausgangspunkt der 5-HT-Synthese. Aus ihr entsteht durch Hydroxylierung zunächst 5-Hydroxytryptophan und nach anschließender Decarboxylierung das Serotonin.

Durch die Wirkung der mitochondrialen Monoaminoxidase (MAO) wird der erste Abbauschritt für Serotonin eingeleitet. Das dabei entstehende 5-Hydroxy-indolylacetaldehyd wird nun entweder mit Hilfe der Aldehydoxidase zu 5-Hydroxy-indolyl-essigsäure umgewandelt und dann renal eliminiert (Hauptweg) oder es entsteht mittels der Alkoholdehydrogenase das 5-Hydroxytryptophol (untergeordnete Rolle im 5-HT-Metabolismus).

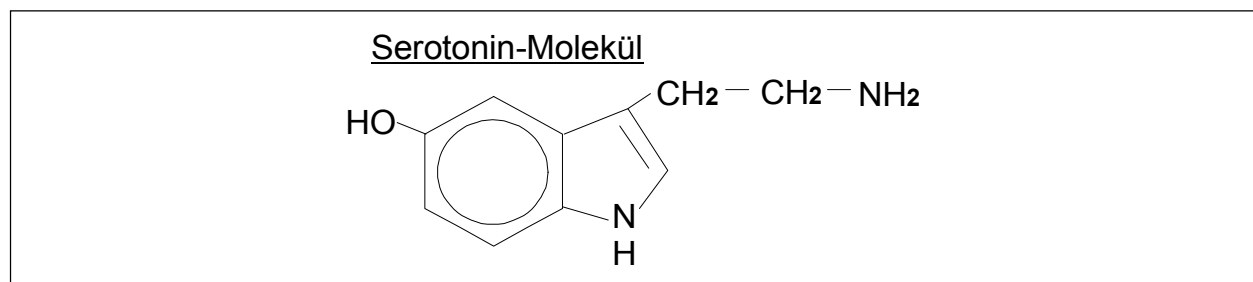
Der größte Anteil von Serotonin im Organismus wurde im Bereich des Gastrointestinaltraktes, besonders in den enterochromaffinen APUD-Zellen (*a*mine and/or amine *p*recursor *u*ptake and *d*ecarboxylation), vorgefunden. In einigen Neuronen der mesenterialen Nervengeflechte, in



Thrombozyten sowie in Mastzellen (nur bei Mäusen, Ratten und Kaninchen (Estler, 1992; Frimmer, 1986)) ist dieses biogene Amin ebenfalls nachweisbar. Aufgrund seiner Vielzahl verschiedener Rezeptorsubtypen (siehe nächsten Abschnitt) zeigt Serotonin unterschiedlichste, z.T. gegensätzliche Wirkungen im Organismus. So führt Serotonin in den Blutgefäßen zum einen zu einer Vasodilatation (vermittelt über 5-HT<sub>1</sub>-Rezeptoren) und zum anderen zu einer Vasokonstriktion (5-HT<sub>2(1)</sub>-vermittelt). Die Regulation der Herztätigkeit und des Blutdrucks unterliegt genauso dem Serotonineinfluss (über die Rezeptortypen 1 bis 3) wie auch die Kontrolle der Magen-Darm-Motilität. Über 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren verursacht Serotonin eine Aggregation der Thrombozyten, und bei Asthmatikern konnte eine Serotonin-induzierte Bronchokonstriktion beobachtet werden (Estler, 1992; Forth et al., 1992; Gyermek, 1996; Mutschler, 1991).

Im Zentralnervensystem wird das Serotonin hauptsächlich in den Raphe-Kernen und im Tegmentum des mesenzephalen, pontinen und medullären Hirnstamms gebildet (Forth et al., 1992; Törk, 1990). Die unterschiedlichen serotoninergeren Zellgruppen in dieser Region wurden von Dahlström und Fuxe (1964) mit B1 bis B9 bezeichnet, entsprechend ihrer Lage im Hirnstamm und ihrer Projektionsgebiete (B1 am kaudalsten). Die mehr rostral gelegenen Zellgruppen B4 bis B9 senden ihre Fasern in höher liegende Zentren (Zerebraler Kortex, Thalamus, Caudato-Putamen, Zerebellum, Hypothalamus, limbisches System), wohingegen die kaudalen B1- bis B3-Gruppen in die Medulla oblongata und das Rückenmark, hier v.a. in die Vorderhornzellen, projizieren (Greenstein und Greenstein, 2000; Törk, 1990). Serotonin wurde auch im Bereich der Pinealdrüse nachgewiesen, wo es die Vorläufersubstanz für Melatonin darstellt (Gyermek, 1996).

Der Neurotransmitter Serotonin ist an vielen verschiedenen Funktionen des Organismus beteiligt, u.a. an der Regulation des Verhaltens und einer Fülle neurobiologischer Prozesse. Dazu gehört die Regulation des Schlaf-Wach-Rhythmus, der Nahrungsaufnahme, der Schmerzwahrnehmung, der Körpertemperatur sowie die der Stimmung, der Kognition und die Kontrolle des Angstverhaltens und der körpereigenen Impulse (Forth et al., 1992; Greenstein und



Greenstein, 2000; Gyermek, 1996; Maswood und Uphouse, 1997). Serotonin scheint des Weiteren an der Induktion motorischer Aktivitäten beteiligt zu sein (Darmani und Zhao, 1998; Gyermek, 1996; Takahashi et al., 2000), und aufgrund der Tatsache, dass serotoninerge Projektionsfasern in Regionen des pyramidalen und extrapyramidalen motorischen Systems vorzufinden sind, erscheint dies auch nachvollziehbar. Störungen des serotoninergen Gleichgewichts sowohl in der Peripherie als auch im Zentralnervensystem äußern sich in einer Reihe von Erkrankungen. Das Karzinoid-Syndrom, hervorgerufen durch einen Tumor der APUD-Zellen, verdeutlicht sehr eindrucksvoll einen Teil der peripheren Serotoninwirkungen. Als ursächlich für die Entstehung verschiedener neuropsychiatrischer Erkrankungen, wie affektive Störungen, Schizophrenie, Zwangsstörungen, Autismus, Panik- und Angststörungen, Bulimie, Anorexia nervosa sowie Alkoholismus werden Störungen des zentralnervösen Serotoninhaushaltes angesehen (Brewerton et al., 1990; Carli und Samanin, 2000; Charney et al., 1990; Coccaro et al., 1990; Csernansky et al., 1990; Glennon, 1990; Insel, 1992; Kaye, 1997; Maurel et al., 1999; McBride et al., 1990; Roy et al., 1990; Zohar et al., 1990).

Natürlich wird versucht, die genannten Erkrankungen u.a. medikamentös zu behandeln. Dabei greift man in den Serotonin-Metabolismus ein und/oder macht sich die Serotonin-agonistischen und -antagonistischen Eigenschaften zunutze. Bestimmte 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten (z.B. Buspiron) weisen anxiolytische und antiaggressive Wirkungen auf, und Urapidil vermittelt seine antihypertensiven Effekte ebenfalls über den 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren (Frimmer, 1986; Gyermek, 1996). Bei der Migränetherapie kommen 5-HT<sub>1</sub>-Rezeptoragonisten (Sumatriptan), aber auch 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptorantagonisten (Methysergid) zur Anwendung. Die Antiemetika, die antagonistisch an den 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren der Area postrema, des Nucleus tractus solitarius und der vagalen Afferenzen des Gastrointestinaltraktes angreifen (Ondan-, Grani-, Tropisetron), sind sehr potente Therapeutika der zytostatikainduzierten Übelkeit. Der bei Motilitätsstörungen des Magen-Darm-Traktes angewandte Wirkstoff Cisaprid, ein Antagonist der 5-HT<sub>4</sub>-Rezeptoren, besitzt prokinetische Eigenschaften. Zur Behandlung von Erkrankungen, bei denen pathogenetisch u.a. ein Serotoninmangel angenommen wird (z.B. Depression, Ess-Störungen, Alkoholismus), stehen Medikamente zur Verfügung, die auf unterschiedliche Art und Weise die Serotoninkonzentration im ZNS erhöhen. So verabreicht man z.B. ZNS-gängige Vorstufen des Serotonins (Oxitriptan), blockiert die Wiederaufnahme des Serotonins aus dem synaptischen Spalt (SSRI = selective serotonin reuptake inhibitors) oder blockiert serotoninabbauende Enzyme (MAO-Hemmer).

### 1.1.5.2. Transmissionsmechanismen und Vorkommen der Rezeptorsubtypen

Von Nervenfasern freigesetztes Serotonin kann zum einen direkt an Synapsen wirken, zum anderen an extrasynaptischen Rezeptoren angreifen. Besonders im Striatum ist die Mehrzahl der Kontakte afferenter Serotoninfasern mit Neuronen nichtsynaptischer Natur. Nur in weniger als 20% der neostriatalen Neurone waren Synapsen, hier nur an den dendritischen „spines“ und Schäften, zu beobachten (Descarries et al., 1990). In den terminalen Endigungen der Neurone wird Serotonin hauptsächlich in kleinen pleomorphen, z.T. aber auch großen granulierten Vesikeln gespeichert. Die Anzahl der 5-HT-Varikositäten ist im ventromedialen und kaudalen Teil des Neostriatum höher als im dorsolateralen und rostralen (Descarries et al., 1990).

Wie bei vielen anderen Substanzen des Organismus auch, hat eine Erhöhung der intrazytoplasmatischen  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen eine Serotoninfreigabe aus den Vesikeln in den intermembranären Spalt zur Folge (Blakely et al., 1997). Die Wiederaufnahme des Serotonins erfolgt über einen spezifischen Serotonin-Transporter (SERT), der im Austausch gegen ein  $\text{K}^{+}$ -Ion Serotonin zusammen mit je einem  $\text{Na}^{+}$ - und  $\text{Cl}^{-}$ -Ion in das Zytoplasma zurückbefördert. Von dort aus wird Serotonin im Tausch gegen ein  $\text{H}^{+}$ -Ion über einen anderen Transporter in die Vesikel eingeschleust und steht nun wieder für weitere Übertragungen zur Verfügung (Povlock und Amara, 1997). Wie im vorigen Abschnitt schon angedeutet, vermittelt Serotonin seine Effekte über eine Vielzahl von Rezeptorsubtypen. Es sind zur Zeit 7 verschiedene Serotonin-Rezeptortypen bekannt, die ihrerseits wiederum in insgesamt 14 Subtypen eingeteilt werden können (Hoyer und Martin, 1997). Mit Ausnahme des 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren, der direkt an der Öffnung von Ionenkanälen beteiligt ist, handelt es sich um metabotrope Rezeptoren. Zumeist ist die Signalübertragung second-messenger-gekoppelt. Die Bindung von Serotonin an 5-HT<sub>1</sub>-Rezeptoren hat hauptsächlich die Öffnung von  $\text{K}^{+}$ -Kanälen und damit eine Hyperpolarisation zur Folge. Dies wird auf die Stimulation von  $\text{G}_{i/o}$ -Proteinen zurückgeführt, wobei dabei teilweise der second messenger cAMP involviert ist (Aghajanian et al., 1990). Allerdings wurde bei einigen 5-HT<sub>1</sub>-Rezeptorsubtypen (siehe Tabelle 1) auch eine Hydrolyse von Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphonat ( $\text{PIP}_2$ ) und damit eine Spaltung in Inositol-1,4,5-trisphosphat ( $\text{IP}_3$ ) und Diacylglycerol (DAG) beobachtet (Hartig, 1997; Julius, 1991). Über die beiden second messenger  $\text{IP}_3$  und DAG kommt es zu einer Öffnung von  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanälen bzw. zur Stimulation der Proteinkinase C und damit u.a. zur Depolarisation der Zelle.

Die  $\text{IP}_3$ -Kaskade hat die größte Bedeutung bei der Signaltransduktion über 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren (Aghajanian et al., 1990; Blank et al., 1996; Hartig, 1997). Einen Anstieg von cAMP über  $\text{G}_s$ -Proteine mit einer anschließenden Zelldepolarisation kann man bei der Bindung von Serotonin

an 5-HT<sub>4/6/7</sub>-Rezeptoren beobachten. Ob dieser Mechanismus auch eine Rolle bei den 5-HT<sub>5</sub>-Rezeptoren spielt, ist noch weitestgehend unbekannt. Die einzelnen Rezeptorsubtypen sind größtenteils postsynaptisch lokalisiert. Jedoch besitzt Serotonin über präsynaptisch angeordnete Autorezeptoren, besonders 5-HT<sub>1</sub>-Rezeptoren, die Fähigkeit, seine eigene Ausschüttung zu modulieren (Forth et al., 1992; Hartig, 1997). Auch wurde über präsynaptische Heterorezeptoren, d.h. Rezeptoren, die von anderen Transmittern aktiviert werden, berichtet (Göthert und Schlicker, 1997).

Die Verteilung der Rezeptorsubtypen im Zentralnervensystem wurde in der Vergangenheit intensiv untersucht.

**Tabelle 1**

<b>Rezeptor-subtyp</b>	<b>Signal-Transduktionsmechanismus</b>	<b>Gehäuftes Vorkommen der Rezeptoren</b>
5-HT <sub>1A</sub>	Gi/o-Protein-vermittelte Reduktion von cAMP (oder second messenger-unabhängig) mit Kalium-Kanal-Öffnung (Inhibition); Bei den 5-HT <sub>1A/1B/1F</sub> -Rezeptoren auch schwache Stimulation der Phospholipase C (IP <sub>3</sub> -Kaskade mit Exzitation)	Neokortex, Raphe-Kerne, Hippokampus, Septum, Amygdala, Hypothalamus, Substantia gelatinosa
5-HT <sub>1B</sub>		Striatum, Zerebellum, Hippokampus, Pallidum, Substantia nigra, Neokortex, Amygdala, Hypothalamus
5-HT <sub>1D</sub>		Striatum, Pallidum, Substantia nigra, Neokortex, Amygdala, Hypothalamus
5-HT <sub>1E</sub>		Striatum, Neokortex
5-HT <sub>1F</sub>		Zerebraler Kortex, Striatum, Hippokampus
5-HT <sub>2A</sub>	Stimulation der Phospholipase C über Gq <sub>11</sub> -Proteine mit Hydrolyse von PIP <sub>2</sub> in IP <sub>3</sub> und DAG, IP <sub>3</sub> -vermitteltes Schließen von Kalium-Kanälen (Exzitation)	Zerebraler Kortex, Nucleus endopiriformis, Bulbus olfactorius, einige Hirnstammkerne, Striatum
5-HT <sub>2B</sub>		bisher nur im Rückenmark und Zerebellum nachgewiesen
5-HT <sub>2C</sub>		Plexus choroideus, Hippokampus, Amygdala, Zerebraler Kortex, Striatum
5-HT <sub>3</sub>	Ligand/Rezeptor-Interaktion (ionotroper Rezeptor) mit direkter Öffnung von Ionenkanälen (schnelle Exzitationen)	Unterer Hirnstamm, Hinterhorn des Rückenmarks, Zerebraler Kortex, Hippokampus, Substantia gelatinosa,
5-HT <sub>4</sub>	G <sub>s</sub> -Protein-vermittelter cAMP-Anstieg mit depolarisierender Wirkung auf die Zelle (langandauernde Exzitation)	Striatum, Thalamus, Bulbus olfactorius, Hippokampus, Hirnstamm
5-HT <sub>5A</sub>	Unbekannter Wirkmechanismus (G <sub>s</sub> ?)	Astrozyten, Hippokampus, Zerebraler Kortex, Hypothalamus
5-HT <sub>5B</sub>		Hippokampus, Habenulakerne
5-HT <sub>6</sub>	G <sub>s</sub> -Protein-vermittelter cAMP-Anstieg mit depolarisierender Wirkung auf die Zelle (Exzitation)	Striatum, Hippokampus, Tuberculus olfactorius
5-HT <sub>7</sub>	G <sub>s</sub> -Protein-vermittelter cAMP-Anstieg mit depolarisierender Wirkung auf die Zelle (Exzitation)	Nucleus thalamicus medialis und dazugehörige limbische und kortikale Regionen

Die z.T. unterschiedlich angewandten Methodiken, z.B. autoradiographische Markierungen der Rezeptorbindungsstellen oder der m-RNA-Nachweis mittels in situ Hybridisation, lieferten dabei grundlegende Informationen.

In der Tabelle 1 erfolgt eine Auflistung der Gehirnareale, in denen die entsprechenden Rezeptorsubtypen in großer Anzahl nachgewiesen werden konnten (Hamon, 1997; Hartig, 1997; Mengod et al., 1997; Palacios et al., 1990; Pazos und Palacios, 1985; Waeber und Palacios, 1994; Ward und Dorsa, 1996).

Außerdem verschafft sie einen Überblick über die verschiedenen Signaltransduktionsmechanismen (Aghajanian und Andrade, 1997; Aghajanian et al., 1990; Blank et al., 1996; Hartig, 1997; Hoyer und Martin, 1997).

### **1.1.5.3. Interaktionen innerhalb des ZNS**

Serotonin scheint an der Modulation der Freisetzung und Wirkung verschiedener Hormone und Transmitter im ZNS beteiligt zu sein. So wurde beschrieben, dass ein 5-HT<sub>1A</sub>- und ein 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptoragonist die Noradrenalin ausschüttung im Hippokampus bzw. im frontalen Kortex förderte (Gobert und Millan, 1999; Hajos-Korcsok et al., 1999). Im ventrobasalen Thalamus verstärkte Serotonin den Effekt der exzitatorischen Aminosäuren Kainat, Quisqualat und NMDA (Eaton und Salt, 1989), und Filakovszky et al. (1999) vermuteten eine Triggerung epileptischer Aktivitäten durch glutamaterge und serotoninerge Interaktionsmechanismen. An einer Steigerung der Konzentrationen von Prolaktin, Kortisol, Somatotropin und ACTH im humanen Plasma und dem von Nagern, d.h. ein stimulierender Effekt auf der hypothalamisch-hypophysär-adrenokortikalen Achse, scheinen die beiden obengenannten Rezeptoren und zusätzlich der 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptorsubtyp beteiligt zu sein (Gyermek, 1996; Murphy et al., 1990).

Da das Striatum sowohl mit der Substantia nigra als auch mit den dorsalen Raphe-Kernen in Verbindung steht, ist auch eine Interaktion zwischen Serotonin und Dopamin zu vermuten. Tatsächlich liegen einige Untersuchungen hierüber vor. Ng et al. (1999) beschrieben eine vermutlich über verschiedene 5-HT-Rezeptorsubtypen vermittelte Regulation der Dopaminfreisetzung im Striatum. Dabei bewirkten die 5-HT<sub>1A</sub>- und die 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptoren eine Förderung, die 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren dahingegen eine Hemmung der Dopaminfreisetzung. In einer anderen Studie jedoch hatte ein 5-HT<sub>1B</sub>-Rezeptoragonist eine Hemmung der Dopaminausschüttung aus striatalen Synaptosomen, wahrscheinlich über präsynaptische Heterorezeptoren, zur Folge (Sarhan et al., 1999). Der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonist 8-OH-DPAT

verursachte im Striatum sowohl eine Hemmung der basalen als auch der durch bestimmte Antipsychotika (die 5-HT<sub>2A</sub>/Dopamin-D<sub>2</sub>-Rezeptorantagonisten Clozapin, Risperidon und Amperozid) hervorgerufenen Dopaminfreisetzung (Ichikawa und Meltzer, 2000). Inwiefern die 5-HT/Dopamin-Interaktionen optimal therapeutisch genutzt werden können, bleibt weiterhin zu erforschen.

#### **1.1.6. Cholecystokinin im ZNS**

Die Entdeckung des Transmitters Cholecystokinin (CCK) erfolgte zunächst in den Zellen des Dünndarms. Der erst später entstandene Name dieses Transmitters impliziert dabei gleichzeitig einen Teil seiner Funktion – die Stimulation der Ausschüttung von Gallensäuren während des Verdauungsprozesses.

Inzwischen liegen zahlreiche Arbeiten hinsichtlich dieses Transmitters vor, die das Bild von CCK immer komplexer erscheinen lassen. Ähnlich wie Serotonin auch, ist das Neuropeptid Cholecystokinin an zahlreichen sowohl peripheren als auch zentralen Prozessen beteiligt, auf die nicht näher eingegangen werden soll. Derzeit sind zwei CCK-Rezeptortypen bekannt, der „periphere“ CCK<sub>A</sub>- und der „zentrale“ CCK<sub>B</sub>-Rezeptor, wobei weitere Nachforschungen ergaben, dass beide Typen sowohl im Gastrointestinaltrakt als auch im ZNS vorkommen (Altar und Boyar, 1989; Boden und Woodruff, 1994; Branchereau et al., 1992; Matozaki et al., 1990; Mercer und Beart, 1997). Über die eigentlichen Signalübertragungsmechanismen bestehen immer noch Unklarheiten. Branchereau et al. (1993) führten Ableitungen an Neuronen des Nucleus tractus solitarius der Ratte durch und beschrieben zum einen eine über CCK<sub>A</sub>-Rezeptoren vermittelte kalium-induzierte Hyperpolarisation und zum anderen eine Verminderung der Kaliumdurchlässigkeit über den CCK<sub>B</sub>-Rezeptoren mit einer Depolarisation der Neurone. Als verantwortlich für die Auslösung eines exzitatorischen CCK<sub>B</sub>-Effektes wurde ein G-Protein-gekoppelter Effektormechanismus vermutet, wobei IP<sub>3</sub> als second messenger nicht unbeteiligt zu sein scheint (Boden und Woodruff, 1994; Lallement et al., 1994; Matozaki, 1990). Einen CCK-8-induzierten Anstieg des intrazellulären Kalziums, allerdings ohne Einfluss auf die Phospholipase C, d.h. einen IP<sub>3</sub>- oder DAG-unabhängigen Mechanismus, beobachteten Kaufmann et al. (1992), und auch hier sollen CCK<sub>B</sub>-Rezeptoren beteiligt sein. Shinohara und Kawasaki (1997) wiesen eine Suppression der Kaliumauswärtsströme und der durch Kalzium aktivierten Kaliumströme über CCK<sub>B</sub>-Rezeptoren in Neuronen des Hippokampus nach. In einer anderen Studie induzierten CCK<sub>A</sub>-Rezeptoren eine Blockierung barium-sensitiver Kaliumströme

mit der Folge einer Exzitation von Neuronen des dorsalen Raphe-Kerns (Boden und Woodruff, 1994). Auch führte eine durch CCK hervorgerufene Aktivierung der Phospholipase C und ein Anstieg des zytosolischen Kalziums in Hauptzellen des Magens zu der Annahme, dass bei der Transmission über CCK<sub>A</sub>-Rezeptoren IP<sub>3</sub> eine Rolle als second messenger zu spielen scheint (Qian et al., 1993).

Cholecystokinin ist ein Transmitter, der eine weite Verbreitung innerhalb des ZNS aufweist. Die vorherrschende Form von Cholecystokinin ist das sulfatierte Oktapeptid (CCK-8S). Verschiedene Techniken zum Nachweis von CCK-mRNA oder von CCK-Bindungsstellen zeigten ein hohes Vorkommen besonders im zerebralen Kortex, aber auch in Teilen des Thalamus, im Hypothalamus, im Hippokampus, in der Amygdala, dem Zerebellum, in der Substantia nigra und auch im Striatum (Durieux et al., 1988; Graybiel, 1990; Hansson et al., 1998; Hughes et al., 1989; Kritzer et al., 1990; Mercer und Beart, 1997; Schiffmann und Vanderhaeghen, 1991). Es wurde beschrieben, dass der größte Teil des striatalen Cholecystokinins aus dem Kortex stammt. Insbesondere Fasern aus dem medialen prefrontalen Kortex projizieren bilateral ins Striatum, wobei die ipsilateralen Afferenzen dominieren (Morino et al., 1994; You et al., 1994).

Zahlreiche Untersuchungen in verschiedenen Teilen des ZNS ergaben, dass das Neuropeptid CCK einen vorwiegend exzitatorischen Einfluss auf die Neurone hat (Davidowa et al., 1995 und 1998; Heidel und Davidowa, 1998; Jarvis et al., 1992; Lamour et al., 1983; Shinohara und Kawasaki, 1997; Wu und Wang, 1996; Zippel et al., 1999). Dies scheint sicherlich in der Tatsache begründet zu sein, dass die größtenteils depolarisierenden CCK<sub>B</sub>-Rezeptoren im Vergleich zu den CCK<sub>A</sub>-Rezeptoren im ZNS dominieren. CCK besitzt, ähnlich wie Serotonin auch, vielfältige modulatorische Fähigkeiten. So nimmt es zum Beispiel Einfluss auf die Freisetzung exzitatorischer Aminosäuren (Glutamat und Aspartat) im Hippokampus (Breukel et al., 1997). Andere Forschergruppen entdeckten eine vermutlich über CCK<sub>B</sub>-Rezeptoren vermittelte Suppression der Dopamin-Ausschüttung im Neostriatum (Altar und Boyar, 1989) und eine Abhängigkeit der modulatorischen CCK-Wirkungen von den jeweils beteiligten Peptidfragmenten (Agnati et al., 1983) in dieser Gehirnregion. Weiterhin sind Interaktionen zwischen Cholecystokinin und Serotonin beschrieben, besonders im Zusammenhang mit der Regulation der Nahrungsaufnahme (Leibowitz et al., 1990; Orosco et al., 1990), aber auch im Zusammenhang mit der Steuerung emotionalen Verhaltens (Becker et al., 1999; To und Bagdy, 1999).

## 2. Ziel- und Fragestellungen

Obwohl, wie in der Einleitung dargelegt, eine ausgeprägte serotoninerge Innervation des Striatum durch die Raphe-Kerne vorhanden ist, war zu Beginn der Untersuchungen fast nichts zu den Wirkungen des Serotonins in diesem zentralnervösen Areal bekannt, bzw. lagen widersprüchliche Befunde dazu vor. Noch weniger war über die Einbeziehung spezifischer Rezeptortypen bekannt (Calabresi, 1997).

Stefani et al. (1990) hatten eine Aktivierung striataler Neurone durch Serotonin aufgezeigt, wohingegen Herz und Zieglgänsberger (1968) über Serotonin-induzierte Hemmungen berichteten. In diesen Arbeiten kamen jedoch keine Serotoninrezeptoragonisten oder – antagonist zum Einsatz.

Deshalb sollte nachgeprüft werden, ob Serotonin striatale Neurone bevorzugt erregt oder hemmt und welche Rezeptoren diesen Effekt vermitteln könnten. Als erstes sollte die mögliche Einbeziehung des 5-HT<sub>1A</sub>- und die des 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptors geprüft werden.

Der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor ist üblicherweise als hemmende Reaktionen vermittelnd bekannt, allerdings ist seine Existenz im Striatum umstritten. Pazos et al. (1985) und Pazos und Palacios (1985) wiesen autoradiographisch das Vorhandensein von 5-HT<sub>1B</sub>-, 5-HT<sub>1D</sub>-, sowie Rezeptoren der Klasse 5-HT<sub>2</sub> im Striatum nach. 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorbindungsstellen im Striatum und auch im angrenzenden Pallidum fehlten. Julius (1991) konnte anhand molekularbiologischer Untersuchungstechniken bezüglich des Vorkommens von mRNA verschiedener 5-HT-Rezeptorsubtypen im ZNS ähnliche Ergebnisse aufweisen. In einer anderen Arbeit wurden jedoch im lateralen Teil des Caudato-Putamen 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorbindungsstellen beschrieben (Hamon, 1997), und weiterhin gab es die Schilderung einer 5-HT<sub>1A</sub>-Heterorezeptor-induzierten Hemmung der Tyrosinhydroxylierung in striatalen Synaptosomen (Johnson et al., 1993).

Das potentielle Vorkommen des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptors war auch deshalb für uns interessant, weil die Untersuchungen innerhalb eines Teilprojektes des durch die DFG unterstützten Innovationskollegs INK 21 mit dem Thema „Kompensations- und Regenerationsmechanismen nach definierten Veränderungen an Transmissionssystemen und ihre Bedeutung für Hirnfunktionen“ liefen. Im Mittelpunkt stand das serotoninerge System und speziell die Funktion des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptors.

Es existieren Arbeiten darüber, die nachweisen, dass die Spontanentladungsraten von Neuronen des ZNS einen Einfluss auf die Responsivität auf verschiedene Transmitter haben. So zeigte z.B.



Heublein (1995), dass spontan inaktive striatale Neurone seltener auf CCK reagieren als spontan aktive Neurone. Auch Wetzell (1997) beschrieb diesen Aspekt und zeigte gleichzeitig, dass eine vorherige Aktivierung mit Glutamat die Antwortbereitschaft spontan inaktiver striataler Neurone auf CCK-8S fördert. Strahlendorf et al. (1984) konnten auch nachweisen, dass die basale Entladungsrate zerebellärer Purkinje-Zellen wesentlich den Effekt von Serotonin an diesen Neuronen beeinflusst.

Ob an den von uns untersuchten Zellen eine Abhängigkeit der Antwortbereitschaft auf Serotonin, bzw. dessen Agonisten, von der Ausgangsentladungsrate besteht, sollte deshalb auch geklärt werden.

Wie im einleitenden Teil dieser Arbeit erwähnt, führten Descarries et al. (1990) Untersuchungen durch, welche die mikroanatomischen Strukturen striataler Neurone aufdecken sollten und stellten dabei u.a. fest, dass das Auftreten serotoninerger Varikositäten im ventralen, medialen und kaudalen Teil des Striatum am größten war.

Orientierend an den genannten Hinweisen setzten wir uns auch das Ziel, herauszufinden, ob die Neurone, welche serotoninerge Effekte aufwiesen, einer spezifischen Verteilung im Striatum folgten.

Wie erwähnt liegen Studien vor, die darauf hinweisen, daß eine Interaktion zwischen Serotonin und dem Transmitter Cholecystokinin innerhalb des ZNS besteht. So zeigten To und Bagdy (1999), dass der anxiogene Effekt von zentral appliziertem CCK nach chronischer Verabreichung des Serotonin-Reuptake-Hemmers Fluoxetin vermindert werden konnte. Auch Becker et al. (1999) stellten fest, dass bei Ratten, die bestimmtem Streß unterlagen (z.B. durch zu enge Käfighaltung) oder denen Yohimbin (eine Substanz mit anxiogenen Eigenschaften) verabreicht wurde, die Konzentration von CCK im Kortex anstieg. Diese CCK-Erhöhung konnte durch vorherige und auch durch gleichzeitige Stimulation mit verschiedenen 5-HT<sub>1A</sub>-Agonisten verhindert werden und es kam dabei auch zu einer Anxiolyse.

Da noch keine Nachforschungen hinsichtlich möglicher Interaktionen von CCK-8S und Serotonin innerhalb des Neostriatum zu Beginn dieser Untersuchungen existierten, war die Abklärung dieses Aspektes ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

***Folgende Fragestellungen sind Gegenstand dieser Arbeit:***

- Welchen Einfluss hat Serotonin auf die Entladungsrate striataler Neurone? Welches der widersprüchlichen Ergebnisse früherer Arbeiten lässt sich elektrophysiologisch bestätigen?
- Können striatale Neurone durch 5-HT<sub>1A</sub>- und 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptoragonisten in ihrer Aktivität beeinflusst werden? Lassen sich die Effekte der Serotoninrezeptoragonisten durch spezifische Antagonisten blockieren?
- Sind die durch Serotonin bzw. die durch weitere Serotoninrezeptoragonisten beeinflussten Neurone im Striatum unterschiedlich verteilt?
- Hat die Höhe der Grundaktivität der striatalen Neurone einen Einfluss auf die Responsivität der Nervenzellen auf Serotonin bzw. auf den 5-HT<sub>1A</sub>- und den 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptoragonisten und hängen differente Antworten – Aktivierung oder Hemmung – eventuell von der Höhe der Grundaktivitäten ab?
- Wird die Ansprechbarkeit der Neurone auf Serotonin im Striatum durch den vorwiegend exzitatorisch wirksamen Transmitter CCK-8S moduliert?

### **3. Material und Methodik**

#### **3.1. Versuchstiere und Haltung**

Die Durchführung der Versuche erfolgte an erwachsenen männlichen Albinoratten des Stammes „Wistar“, welche aus einer Zucht der Bundesanstalt für Gesundheit Berlin stammten. Eine Genehmigung dieser Versuche wurde von der Senatsverwaltung für Gesundheit und Soziales in Berlin erteilt (Nr. G 0251/95 und G 0123/98).

Die Tiere wiesen ein Gewicht von 250-400g auf. Sie wurden zusammen mit 3 bis 5 anderen Artgenossen in Käfigen in einem normalen Hell-Dunkel-Zyklus gehalten. Wasser und Trockenpellets standen ihnen ad libidum zur Verfügung.

#### **3.2. Angewandte Substanzen**

Die in der nachfolgenden Tabelle 2 stehenden Substanzen wurden jeweils an den striatalen Neuronen mikroiontophoretisch appliziert. Alle aufgeführten Substanzen bezogen wir von der Firma Research Biochemical International (RBI).

Als Lösungsmittel für das Neuropeptid CCK-8S stand Phosphatpufferlösung zur Verfügung. Zur Kontrolle des pH-Wertes diente Indikatorpapier und bei Bedarf erfolgte mittels verdünnter Salzsäure bzw. Natriumhydroxid die Einstellung des optimalen pH-Werts.

Um die Substanzen vor dem chemischen Abbau durch äußere Einflüsse, wie z.B. Wärme oder Licht, zu schützen, wurden sie als kleine Proben abgefüllt und bei ca. – 20 °C gelagert.

Physiologische Natriumchlorid-Lösung wurde zum Stromausgleich in den zentral gelegenen Kanal der Applikationselektrode gefüllt. Zur Markierung der abgeleiteten Neurone diente gesättigte Trypanblaulösung (Natriumsalz der 3,3-Dimethyl-4,4-diaminodiphenyl-1-amino-8-Ly-naphtalin-3,6-disulfonsäure) der Firma Lacheme Brno. Des Weiteren benötigten wir für die Versuche Diethylether und Urethan sowie 10%ige Paraformaldehydlösung (siehe nachfolgende Kapitel).

Tabelle 2

Substanz	Abkürzung	Applikations- stromstärke (nA)	Konzentration (mM)	pH- Wert	Eigenschaften der Substanz
5-Hydroxy-tryptamin-kreatininsulfat	Serotonin oder 5-HT	+10 bis +90	20	4,5	Agonist an den bekannten Serotonin-rezeptoren
(±)-2-Dipropyl-amino-8-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydro-naphtalen-hydrobromid	8-OH-DPAT	+5 bis +70	15 oder 50	4,5	selektiver 5-HT <sub>1A/7</sub> -Rezeptoragonist
(±)-2,5 Dimethoxy-4-iodoamphetamin-hydrochlorid	DOI	+10 bis +60	10	4,5	selektiver 5-HT <sub>2A/2C</sub> -Rezeptoragonist
N-[2-[4-(2-Methoxy-phenyl)-1-pipera-zinyl]ethyl]-N-2-pyridinylcyclohexan-carboxamid-maleat	WAY 100635	+15 bis +60	5	4,5	hochselektiver 5-HT <sub>1A</sub> -Rezeptor-antagonist
S(-)-5-Fluoro-8-hydroxy-2-di-propylamino-1,2,3,4-tetrahydro-naphtalen-hydro-chlorid	S-UH 301	+20 bis +60	10	4,5	selektiver 5-HT <sub>1A</sub> -Rezeptor-antagonist
3-[2-[4-(4-Fluoro-benzoyl)-1-piperdi-nyl]ethyl]-2,4-( <sup>1</sup> H, <sup>3</sup> H)-quinazolin-diontartrat	Ketanserin	+5 bis +50	5	4,5	selektiver 5HT <sub>2A/2C</sub> -Rezeptor-antagonist
sulfatiertes Cholecystokinin-Oktapeptid	CCK-8S	-5 bis -90	0,25	7,8	Meist verbreitetste Form im ZNS, Agonist an den CCK <sub>A</sub> -und CCK <sub>B</sub> -Rezeptoren

### **3.3. Versuchsvorbereitung**

#### **3.3.1. Vorbereitung des Versuchstieres**

Das Versuchstier wurde zunächst in ein großes Glasgefäß von ca. 25 cm Durchmesser eingebracht, in das zuvor Diethyletherlösung eingetropft worden war. Die Ratte, welche sich nun in einem Etherrausch befand, wurde mit einem intraperitonealen Katheter versorgt, über den ihr das Anästhetikum Urethan, mit einer Initialdosis von 1,2 g/kgKG, injiziert wurde. Nach einem ausreichend langen Zeitintervall, in dem regelmäßig die Narkosetiefe des Tieres kontrolliert wurde, z.B. durch taktile Reize (Kneifen ins Ohr, eventuell gefolgt von Pfoten- u./o. Vibrissenbewegungen bei zu geringer Narkosetiefe) oder durch Beobachtung der Atemtiefe bzw. Atemfrequenz, und in welchem eventuell zusätzliche Urethandarreichungen (0,1-0,2 ml) vonnöten waren, konnte das Versuchstier weiter vorbereitet werden. Es wurden zunächst die Kopfhaut durchtrennt und der Schädelknochen trepaniert. Orientierend am Atlas von Paxinos und Watson (1986) wurden insgesamt vier Löcher, mit einem Durchmesser von ca. 3 mm, in die Schädeldecke gebohrt, welche den größten Teil des Caudato-Putamen überdeckten (Koordinaten: 3-5 mm rechts bzw. links lateral der Pfeilnaht sowie 0-1,7 mm vor und 2,2 mm hinter dem Bregma).

Das Versuchstier wurde anschließend in einem stereotaktischen Gerät mittels Schnauzenhalterung und Ohrstiften so fixiert, dass Kopfbewegungen, z.B. fortgeleitet über Atembewegungen, vermieden werden konnten. Über eine rektal eingeführte Mess-Sonde und das Platzieren der Ratte auf einer Heizplatte erfolgte zudem die Kontrolle und Konstanthaltung der Körpertemperatur auf ca. 37 °C während der gesamten Versuchsdauer.

#### **3.3.2. Herstellung und Füllung der Elektroden**

Für die Applikation der in der Tabelle 2 aufgeführten Substanzen verwendeten wir 7-Kanal-Elektroden, bestehend aus Borsilikatglas (Science Products), und als Ableitelektrode diente eine Ein-Kanal-Glaselektrode. Mittels eines Horizontalziehgerätes (Sutter Instrument & Co) erfolgte das Ausziehen der Elektrodenspitzen auf ca 1µm. Da dieser geringe Durchmesser aber mit einem sehr hohen Widerstand verbunden war, wurde unter mikroskopischer Kontrolle mit Hilfe eines am Mikroskop fixierten aber horizontal beweglichen Glasstabes die Spitze der

Mehrkanalelektrode auf ca. 10  $\mu\text{m}$  abgeschlagen, was zudem den Substanzfluss verbessern sollte. Anschließend wurden die beiden Elektroden so aneinander geklebt (mit lichthärtendem Kleber, Kulzer Durafill bond), dass der vertikale Spitzenabstand ca. 20-60  $\mu\text{m}$  betrug. Nach dem vollständigen Erhärten des Klebers erfolgte eine nochmalige mikroskopische Kontrolle der Elektroden, um eventuell aufgetretene Spitzenverziehungen auszuschließen und nur die optimalsten Elektroden zu selektieren.

Mit Hilfe von Hamiltonkanülen wurde jede Substanz in jeweils eine Kapillare der 7-Kanal-Elektrode gefüllt, wobei darauf zu achten war, dass keine Luftblasen in die Kapillaren gelangten. In der zentral liegenden Kapillare der Mehrkanalelektrode befand sich NaCl, welches zur Überwachung der Ströme und zur Aufrechterhaltung des elektrischen Gleichgewichts diente. Anschließend gaben wir in jede Kapillare einen chlorierten Silberdraht und versiegelten jede der Öffnungen mit flüssigem Siegelack, um einen Substanzübertritt zwischen benachbarten Kapillaren bzw. einen Kontakt der Silberdrähte zu vermeiden.

### **3.4. Versuchsdurchführung**

Um externe Störeinflüsse (optische oder akustische Signale etc.) während der gesamten Dauer des Versuches weitestgehend zu vermeiden, platzierten wir das Versuchstier in einen Faradayschen Käfig und führten die Untersuchungen in einem ruhigen und abgedunkelten Raum durch.

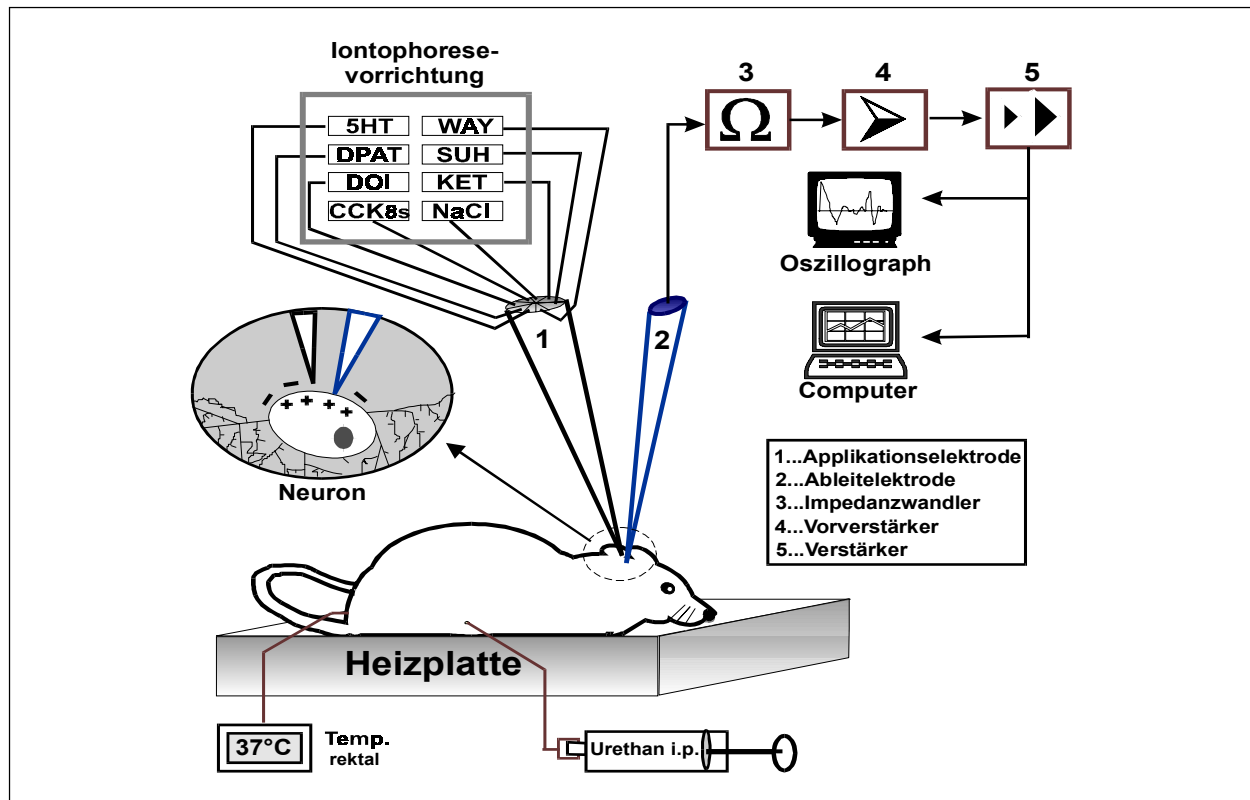
Die vorbereiteten Elektroden wurden in einer mit einem Mikromanipulator verbundenen Halterung befestigt und jeder Silberdraht der Mehrkanalelektrode wurde an ein Zwischenkabel geklemmt und so mit einem Kanal des Iontophoresegerätes (Ionophore 3, Biologic) verbunden. Um ein unbeabsichtigtes Herauslaufen der Substanzen zwischen den Applikationsintervallen zu verhindern, wurden Rückhalteströme in Höhe von 3 bis 7 nA eingestellt, mit einer zu den Ejektionsströmen entgegengesetzten Polarität. Der Silberdraht der Ableitelektrode kontaktierte den Vorverstärker bzw. den Impedanzwandler. Der optimalste Spitzenwiderstand der Ableit- und der Applikationselektrode sollte im Bereich zwischen 10-30  $\text{M}\Omega$  liegen, weil die elektrischen Impulse der Neurone bei höheren bzw. niedrigeren Widerständen kaum sichtbar gemacht werden konnten oder das Austreiben der Substanzen problematisch gewesen wäre. Die Erdungselektrode wurde in einen beliebigen Wundrand der aufgetrennten Kopfhaut gelegt.

Nach einer ausreichend langen Ruhephase (ca. 30-45 min) für das Tier erfolgte nochmals die Kontrolle der Narkosetiefe an der Ratte und nach dem Ausbleiben sichtbarer Effekte (Vibrissenbewegung etc., siehe oben) auf taktile Reize begannen wir, mittels einer dünnen, spitzen Kanüle, mit dem vorsichtigen Entfernen der Dura in dem gerade zu untersuchenden Bohrloch. Nach dem korrekten Positionieren der Elektroden über dem Ableitloch wurden sie zunächst über den manuell betriebenen Mikromanipulator langsam an die Hirnoberfläche herangedreht (Nullpunkt) und anschließend in Schritten von 2-6  $\mu\text{m}$  weiter ins Hirngewebe vorgetrieben. Um ein Austrocknen des Hirngewebes zu vermeiden, bedeckten wir das Ableitloch, wie auch die ungenutzten Bohrlöcher, nach Bestimmung des Nullpunktes mit physiologischer Kochsalzlösung. Nach dem Überwinden des Kortex konnte ab einer Tiefe von ca. 3 bis maximal 8 mm unter dem Nullpunkt mit dem Auffinden elektrischer Impulse von Neuronen des Caudato-Putamen gerechnet werden (Paxinos und Watson, 1986). Die bei der Suche entdeckten extrazellulären neuronalen Aktionspotenziale wurden über den Impedanzwandler sowie den Vor- und Hauptverstärker an den Oszillographen weitergeleitet und dort sichtbar gemacht. Mittels eines Fensterdiskriminators (World Precision Instruments) wurde eine adäquate Schwelle für die Aktionspotenziale festgelegt und, nachdem in diesem Gerät die Potenziale in Standardimpulse umgewandelt worden waren, wurden letztere über ein Interface (Cambridge Electronic Design, CED 1401) an einen Computer weitergeleitet und dort unter dem Programm „Spike 2“ gespeichert.

In der Abbildung 2 ist der geschilderte Versuchsaufbau noch einmal vereinfacht dargestellt.

Wir achteten regelmäßig darauf, dass das Versuchstier ausreichend narkotisiert blieb und verabreichten bei Bedarf, in der Regel nach zwei bis vier Stunden, eine zusätzliche Dosis (0,2 ml) 20%igen Urethans über den intraperitonealen Katheter. Die Aktionspotenziale wurden zunächst so lange aufgezeichnet, bis sich das neuronale Entladungsmuster auf ein gleichmäßiges Niveau eingependelt hatte, was die Grundaktivität der Zelle darstellte. Anschließend konnten wir mit der iontophoretischen Applikation der Substanzen beginnen, wobei die in der Tabelle 2 aufgeführten Austreibstromstärken benutzt wurden. Unsere Versuchsreihen bestanden sowohl aus Einzelapplikationen als auch aus kombinierten Substanzgaben, je nach dem jeweilig aktuellen Versuchsvorhaben.

Beabsichtigten wir, z.B., Interaktionen zwischen Serotonin, bzw. dessen Agonisten, und Cholecystokinin zu testen, so verabreichten wir zunächst jede der Substanzen über durchschnittlich 100 s jeweils allein und anschließend gemeinsam über einen ähnlichen Zeitraum.



**Abb. 2:** Schematischer Versuchsaufbau

Auch ließen wir in vielen Fällen eine der beiden Substanzen 50 bis 100 s vorlaufen, um nachfolgend die zweite Substanz für weitere 50 bis 100 s dazuzugeben.

Planten wir, diejenigen Effekte, welche durch die alleinige 5-HT-Rezeptoragonistengabe hervorgerufen worden waren, auf eine eventuelle Blockierung durch die Antagonisten hin zu untersuchen, so wurde in vielen Ableitungen zunächst dem entsprechenden 5-HT-Rezeptorantagonisten (siehe Tabelle 2) eine 50-100 sekündige Vorlaufzeit gegeben, um eine ausreichende Sättigung an den Serotoninrezeptoren zu erreichen. Daran anschließend gaben wir den Serotoninagonisten, meist 100 s lang, dazu. In einigen Fällen stoppten wir die Applikation des Agonisten nach ca. 100 s und trieben nur noch den Antagonisten über einen kurzen Zeitraum (50 s) weiter aus. In einigen wenigen Ableitungen verabreichten wir den Antagonisten zunächst allein (50-100 s) und nach einer ausreichen langen Wartezeit (ca. 300 bis 400 s) kombinierten wir diesen mit dem entsprechenden Agonisten nach obigem Schema. Folgende Substanzen wurden demnach während der Versuche kombiniert:

- CCK-8S + Serotonin
- WAY 100635 + Serotonin



- S-UH 301 + Serotonin
- WAY 100635 + 8-OH-DPAT
- S-UH 301 + 8-OH-DPAT
- Ketanserin + DOI

Wir waren bestrebt, möglichst alle in der Mehrkanalelektrode befindlichen Substanzen (maximal 6 verschiedene Testsubstanzen; NaCl - im zentralen Kanal gelegen - nicht mitgerechnet) am aufgefundenen Neuron zu testen, allerdings lag eine große Schwierigkeit darin, die Potenziale der Zellen über einen längeren Zeitraum ausreichend vom Hintergrundrauschen zu diskriminieren. Eine Zellableitung dauerte zunächst durchschnittlich 60 min und konnte nur fortgesetzt werden, wenn das nötige Größenverhältnis des Aktionspotenzials zum Hintergrundrauschen (ca. 3:1) eingehalten werden konnte, ansonsten musste die Ableitung abgebrochen werden. Dies hatte zur Folge, dass nicht alle Testsubstanzen an jedem Neuron appliziert werden konnten. Generell war es nicht einfach, Aktionspotenziale zu entdecken, da die Neurone des Striatum in Ruhe allgemein eine Ausgangsentladungsrate von geringer Frequenz und Amplitude aufweisen und dies unter Narkose natürlich noch verstärkt wird. blieb die Suche nach extrazellulären Potenzialen im gesamten Trakt erfolglos, wurden die Elektroden, etwas versetzt zum ersten untersuchten Trakt, ein zweites Mal in das gleiche Trepanationsloch vorgeschoben. Allerdings beließen wir es bei maximal zwei Suchvorgängen pro Bohrloch, da das Hirngewebe ansonsten zu stark von den Elektroden zerstört worden und die Lokalisation einer dabei gefundenen Nervenzelle anschließend nicht mehr nachvollziehbar gewesen wäre. Geling es uns, neuronale Aktionspotenziale in einem Trakt zu isolieren und die Wirkungen der Substanzen zu testen, notierten wir nach Beendigung der Zellableitung jeweils die Tiefe der Elektrode, um nach weiteren Such- und Ableitvorgängen in der Tiefe beim Herausziehen der Elektroden die entsprechenden Ableitorte zu markieren. Dazu diente das in der Ableitelektrode befindliche Trypanblau, welches mit einer Stromstärke von 12 nA über einen Zeitraum von 10 min ausgetrieben wurde.

Nach vollständiger Beendigung der Aktionspotenzialsuche in allen vier Trepanationslöchern, erhielt das Versuchstier eine Letaldosis (0,5-1 ml) Urethan und wurde dekapitiert. Nach der Entnahme des Gehirns, welches sofort in Paraformaldehydlösung fixiert wurde, erfolgte die vorschriftsmäßige Entsorgung des Tieres.

### **3.5. Histologische Auswertung**

Die untersuchten Rattenhirne verblieben für etwa 14 Tage in der Paraformaldehydlösung und wurden vor der histologischen Auswertung ausreichend lange (mehrere Stunden) gewässert und damit vom Formaldehyd befreit. Anschließend wurden die Gehirne bei einer Temperatur von  $-15^{\circ}\text{C}$  eingefroren und in  $120\text{ }\mu\text{m}$  feine Frontalschnitte mikrotomiert. Die Markierungsorte konnten nun unter einem Aufsichtsmikroskop sichtbar gemacht und mit Hilfe des Atlas von Paxinos und Watson (1986) entsprechend ihrer natürlichen Lage in schematische Papiervordrucke verschiedener Schnittebenen des Rattenhirns eingeordnet werden. Die für die Dokumentation der untersuchten Neurone relevanten Hirnschnitte wurden im Folgenden mit Kernechtrot angefärbt und archiviert.

### **3.6. Computergestützte statistische Datenverarbeitung**

Während der gesamten Ableitdauer wurden die vorher in Standardimpulse umgewandelten neuronalen Entladungen mit Hilfe des Programmes „Spike 2“ auf der Festplatte des angeschlossenen Computers gespeichert und standen für spätere Analysen zur Verfügung. Die Impulsraten der Neurone wurden zeitgleich mit der Ableitung auf dem an den Computer angeschlossenen Monitor in Frequenz-Zeit-Histogrammen wiedergegeben, um eine visuelle Kontrolle des Versuchsablaufes zu gewährleisten und eventuell auftretende Artefakte zu identifizieren, um sie während der späteren Impulsanalysen isolieren zu können.

Zur Auswertung der Versuchsdaten (mit Hilfe des Programmes „Spike 2 data analysis“) gehörte zunächst für jede einzelne Zelle die Ermittlung der jeweiligen mittleren Impulsraten und der Standardabweichungen vor Substanzgabe, meist die 100 s direkt vor Applikation, (Kontrollperiode = Grundaktivität), während oder direkt nach der Gabe (frühe Periode) und während eines weiteren optimalen Zeitintervalls (in den meisten Fällen 100 s lang) nach der Beendigung der Applikation (späte Periode). Um zu sehen, ob und in welchem Ausmaß die Zellaktivität nach Substanzapplikation wieder ihren ursprünglichen Ausgangszustand (= Grundaktivität) erreicht, erfolgte zusätzlich die Bestimmung der mittleren Entladungsrate und der Standardabweichung in einem geeigneten späteren Intervall (100 s lang), der sogenannten Recovery-Phase. Allerdings konnte nicht in jedem Fall die Recovery-Periode bestimmt werden,

da bei unzureichender Diskriminierung oder plötzlichem Verschwinden der Aktionspotenziale die Ableitung bei einigen Neuronen vorzeitig abgebrochen werden musste.

Betrug die Änderung der mittleren Impulsraten in der frühen bzw. späten Periode im Vergleich zu der Grundaktivität mehr als 25 %, so wurde dies als Effekt angesehen. Bei Neuronen, deren Ausgangsentladungsrate mit  $\leq 1$  Imp./s als sehr gering einzuschätzen war, wurden nur die als responsiv angesehen, deren Änderung zur Grundaktivität  $\geq 0,5$  Imp./s umfasste.

Für jede Nervenzelle, an der sowohl der Einfluss des Serotoninagonisten als auch des entsprechenden Antagonisten getestet worden war, wurde bestimmt, ob es zu einer Blockierung der agonistischen Effekte durch den Antagonisten kam. Für diese Beurteilung wurde die durch den Agonisten hervorgerufene Aktivitätsänderung mit der durch die kombinierte Agonisten-Antagonistengabe verursachten Änderung verglichen.

Erzielte die kombinierte Gabe

- a) keine Aktivitätsänderung oder
- b) eine Reduzierung um mehr als 75 % im Vergleich zum alleinigen Agonisteneffekt oder
- c) eine Hemmung bei vorher exzitatorischem Agonisteneffekt oder
- d) eine Aktivierung bei vorher inhibitorischem Agonisteneffekt,

so wurde dies als Blockierung angesehen.

Mit Hilfe des Statistikprogrammes „SPSS 10.0 for windows“ konnten weiterführende statistische Analysen durchgeführt werden. Für jede einzelne untersuchte Population wurden der Mittelwert und die Standardabweichung der Entladungsraten für alle Zeitintervalle (Kontroll-, frühe, späte bzw. Recovery-Periode) ermittelt. Außerdem errechnete ich auch den jeweiligen Median und konnte damit feststellen, dass die Verteilungen der Entladungsraten einer stark linksschiefen Anordnung unterlagen. Aufgrund der fehlenden Normalverteilung kamen nachfolgend nur parameterfreie Prüfverfahren infrage. Dazu gehörten:

- a) der Wilcoxon-Rangsummen-Test
- b) der Mann-Whitney-U-Test
- c) die Ermittlung des Spearmanschen Korrelationskoeffizienten
- d) der  $\chi^2$ -Test

Mit Hilfe des Wilcoxon-Rangsummen-Tests erfolgte die Beurteilung der vorherrschenden Richtung der Änderung der neuronalen Entladungsraten, d.h. ob erhöhte oder erniedrigte Werte nach Substanzgabe erreicht wurden. Dabei wurden alle Daten, unabhängig davon, ob sie die obengenannten Antwortkriterien erfüllten oder nicht, in diesen Paarvergleich eingeschlossen. Die Ergebnisse der einzelnen Paarvergleiche wurden bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $p \leq 0,05$  als statistisch signifikant angesehen, was ebenfalls für die mit den anderen hier angewandten Testverfahren ermittelten Ergebnisse galt.

Der Mann-Whitney-U-Test wurde angewandt, um herauszufinden, ob sich zwei Neuronenpopulationen in ihren mittleren Entladungsraten unterscheiden.

In einigen Fällen sollte herausgefunden werden, ob sich die Entladungsraten von einer bestimmten Population unter verschiedenen Einflüssen in ähnlicher Weise ändern. Für diesen Zweck wurde der Spearmansche Korrelationskoeffizient  $r$  errechnet und beurteilt.

Bestimmte Häufigkeiten wurden in einer Vier-Felder-Tafel dargestellt und mit Hilfe des  $\chi^2$ -Tests verglichen.

### **3.7. Kritische Betrachtung der Methodik**

Untersuchungen, die auf einer mikroiontophoretischen Verfahrenstechnik beruhen, beinhalten eine Reihe von Schwierigkeiten, die nicht außer Acht zu lassen sind und auf die im Folgenden näher eingegangen werden soll.

Es war sehr problematisch, den horizontalen Elektroden Spitzenabstand vor und während des Versuches optimal einzustellen. Zum einen waren nach dem Zusammenkleben der beiden Elektroden während der gesamten Austrocknungsphase Spitzenverziehlungen nicht immer auszuschließen und zum anderen war es möglich, dass es durch das Tieferreten in das Hirngewebe selbst zu Abscherungen der biegsamen Elektroden Spitzen in verschiedene Richtungen kam. Die Einstellung des vertikalen Spitzenabstandes unterlag ähnlichen Schwierigkeiten und auch hier mußten diejenigen Elektroden ausselektiert werden, deren Abstand nach der Austrocknungsphase weniger als 20  $\mu\text{m}$  bzw. mehr als 60  $\mu\text{m}$  betrug, um Ableitartefakte zu umgehen.

Bei zu nahem Aneinanderliegen der beiden Spitzen war mit einer elektrischen Reizung der Nervenzellmembran zu rechnen, was sich in den Frequenz-Zeit-Histogrammen als Stromartefakt geäußert hätte. Konnten wir nicht sicher beurteilen, ob auftretende Effekte während der Applikation wirklich echt oder doch eher artefaktbedingt waren, wurde vereinzelt Strom über die NaCl-Elektrode verabreicht. Trat dabei keine Änderung der neuronalen Entladungsrate auf, so konnten wir weitestgehend ausschließen, dass durch den Strom selbst ein Effekt vorgetäuscht wird. Lagen die Spitzen zu weit auseinander, so konnte nicht genau beurteilt werden, ob das Ausbleiben eines Effektes durch einen Rezeptormangel oder an der zu weiten Distanz der applizierten Substanz von den Rezeptoren verursacht worden war. Traten allerdings an anderen Neuronen, welche mit denselben Elektroden untersucht wurden, Effekte auf oder wurde durch eine der Substanzen eine Wirkung ausgelöst, so gingen wir davon aus, dass der Spitzenabstand in einem optimalen Bereich lag.

Manchmal gelang es uns nicht, die einzelnen Kapillaren der Mehrkanalelektrode völlig luftblasenfrei zu füllen, was dann mit einem zu hohen Widerstand verbunden sein konnte und das Austreiben der Substanzen erschwert hätte.

In früheren Arbeiten wurde herausgefunden, dass das in der Forschung relativ verbreitete Anästhetikum Urethan auch Einflüsse auf die neuronale Übertragung haben kann (Albrecht und Davidowa, 1989). Um dahingehende eventuelle Effekte auszuschließen oder zu bestätigen, erfolgte eine genaue zeitliche Notierung aller Urethangaben während unseres Versuches. Vor jeder erneuten Urethangabe bzw. am Ende jeder einstündigen Potenzialableitung führten wir, wie schon erwähnt, eine Kontrolle der Narkosetiefe durch, um das Tier in ausreichender Narkose zu halten. Außerdem sollte dadurch die Gefahr vermieden werden, dass, bei zu geringer Narkosetiefe und der damit verbundenen spontanen motorischen Reaktionen bzw. der Reaktionen auf die von uns verabreichten taktilen Reize seitens des Versuchstieres, Erschütterungen an die im Hirngewebe befindlichen Elektroden weitergeleitet werden.

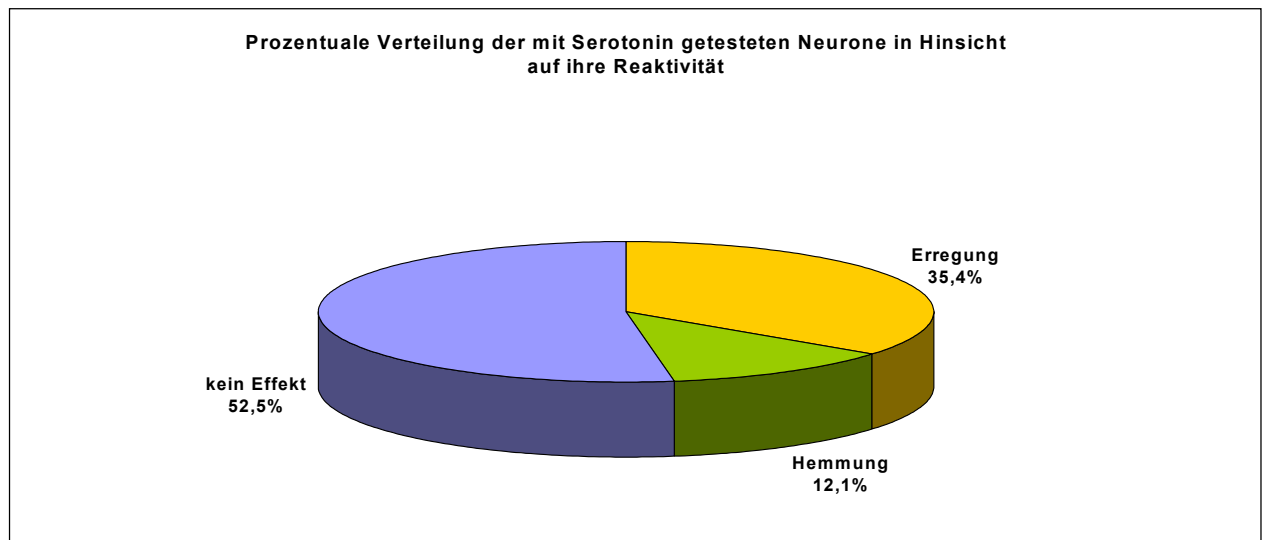
## 4. Ergebnisse

### 4.1. Die der Studie zugrunde liegende Datenpopulation

Grundlage dieser Arbeit sind die Potenzialaufzeichnungen von insgesamt 159 striatalen Neuronen. Da nicht jede Zelle mit allen verwendeten Substanzen getestet werden konnte, unterscheiden sich die einzelnen Gruppengrößen.

### 4.2. Der Einfluss von Serotonin auf die untersuchten striatalen Neurone

Die iontophoretische Applikation von Serotonin erfolgte an insgesamt 99 Neuronen, wobei 35 (35,4 %) ihre Entladungsrate um mehr als 25 % erhöhten, 12 (12,1 %) Neurone gehemmt wurden und 52 (52,5 %) Neurone nach den vorgegebenen Kriterien keinen Effekt zeigten. In der folgenden Abb. 3 ist die Verteilung der Neurone hinsichtlich ihrer Ansprechbarkeit auf die Serotonin-Applikation dargestellt. Wie man hier sehen kann, weist fast die Hälfte der untersuchten Population einen Effekt, entweder in positiver oder in negativer Richtung, auf.



**Abb. 3:** Darstellung der prozentualen Verteilung der 99 mit Serotonin untersuchten Zellen hinsichtlich ihrer jeweiligen Reaktivität auf diesen Transmitter

Die mittlere Entladungsrate der spontan aktiven Neurone, welche der Tabelle 3 entnommen werden kann, war relativ gering, was an narkotisierten Versuchstieren regelmäßig zu beobachten war.

In der Gesamtpopulation stieg nach der Applikation von Serotonin die mittlere Entladungsrate sowohl in der frühen als auch in der späten Periode leicht an und erreichte in der anschließenden Recovery-Phase Werte, die sich wieder der Ausgangsaktivität näherten (siehe Tabelle 3).

Zu diesem Ergebnis tragen auch die nichtresponsiven Zellen bei, die häufig ansteigende Impulsraten zeigten, die nur gering unterhalb der 25%-Grenze bzw. der 0,5 Imp./s-Grenze (bei Spontanentladungen < 1 Imp./s) lagen. Das Überwiegen von aktivierenden Prozessen ist statistisch signifikant (Wilcoxon-Test (WT) mit  $p = 0,029$  [frühe Periode] bzw.  $p = 0,018$  [späte Periode]).

Um die wirklich auftretenden Aktivitätsänderungen zu verdeutlichen (siehe Tabelle 3), wurde die responsive Population in eine durch Serotonin aktivierte und eine supprimierte unterteilt. Da besonders bei letzterer auch variable Reaktionsweisen auftraten (Wechsel von Hemmung und Aktivierung), sind die zwar signifikanten, aber kleineren p-Werte des Wilcoxon-Tests für die supprimierte Population zu erklären. Aber auch die kleinere Neuronenanzahl in dieser Gruppe könnte ursächlich für die, im Vergleich zur aktivierten Population, geringere Signifikanz sein.

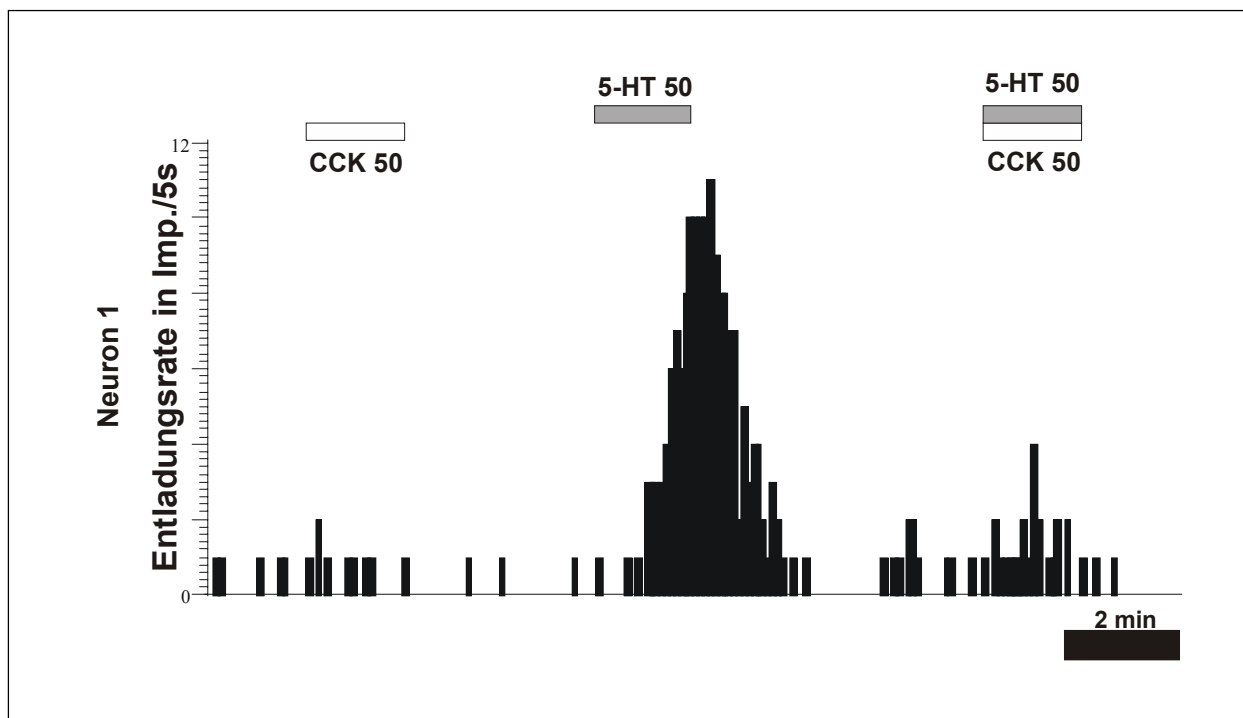
**Tabelle 3**

	<b>Gesamtpopulation (n=99)</b>		<b>Erregte Gruppe (n=35)</b>		<b>Gehemmte Gruppe (n=12)</b>	
	MW [Median] ± SAW (Imp./s)	WT p	MW [Median] ± SAW (Imp./s)	WT p	MW [Median] ± SAW (Imp./s)	WT p
<b>Kontroll- periode</b>	2,12 [1,20] ± 3,20	/	1,96 [1,30] ± 1,88	/	3,14 [2,52] ± 2,40	/
<b>Frühe Periode</b>	2,21 [1,27] ± 3,29	0,029	2,51 [1,80] ± 2,41	< 0,0001	2,18 [1,58] ± 1,74	0,041
<b>Späte Periode</b>	2,38 [1,56] ± 3,25	0,018	3,29 [2,87] ± 2,12	< 0,0001	1,51 [1,10] ± 1,30	0,002
<b>Recovery</b>	2,20 [1,18] ± 3,24	0,331	2,57 [1,70] ± 2,43	< 0,0001	2,03 [1,37] ± 1,34	0,023

In der Tabelle 3 erfolgt eine Zusammenfassung der statistischen Daten der mit Serotonin getesteten Population. Wie daraus auch ersichtlich ist, erfolgte in der Beobachtungszeit keine

Rückkehr zur Ausgangsaktivität (Recovery), nur scheinbar in der Gesamtpopulation. Auffällig sind die unterschiedlichen Mittelwerte für die Spontanaktivitäten der durch Serotonin aktivierten, im Vergleich zur gehemmten Gruppe. Dieser Unterschied ist statistisch signifikant (Mann-Whitney-U-Test,  $p = 0,029$ ), was bedeutet, dass es sich um zwei unterschiedliche Grundgesamtheiten, d.h. verschiedene Neuronentypen, gehandelt haben könnte.

Nachfolgend werden beispielhaft Abbildungen der Entladungsraten von repräsentativen striatalen Nervenzellen dargestellt. Es handelt sich dabei um Frequenz-Zeit-Histogramme der Aktivität sowohl einer durch Serotonin erregten als auch einer gehemmten Zelle.



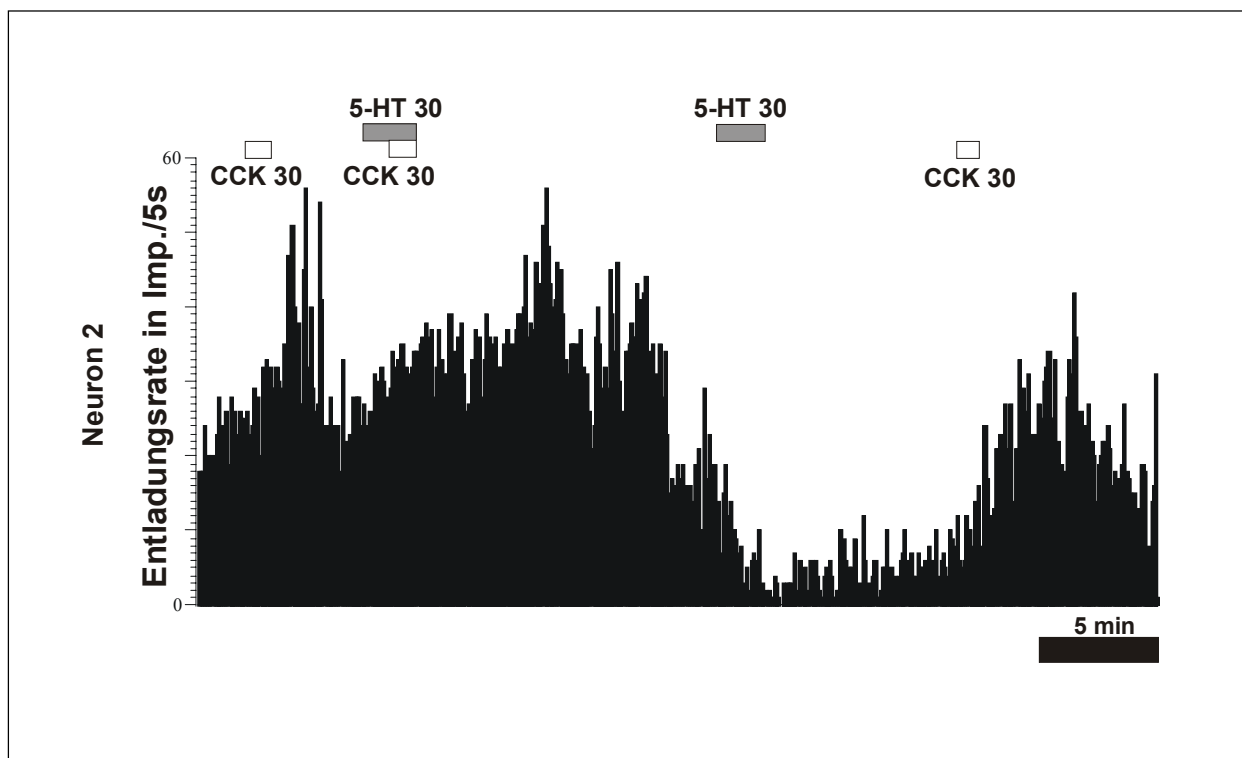
**Abb. 4:** Darstellung des Frequenz-Zeit-Histogramms der Aktivität einer durch Serotonin erregten Nervenzelle (Die grauen und weißen Balken geben die Applikationsdauer (Zeitbezug = schwarzer 2 min-Balken) der aufgeführten Substanzen, die Zahlen neben den Substanzen die benutzte Austreibestromstärke (in nA) an.)

In der Abb. 4 ist das Entladungsmuster eines Neurons aufgeführt, welches nach der Gabe von Serotonin eine deutliche Erhöhung der Impulsrate aufwies. Die Grundaktivität dieser Zelle betrug 100 s vor alleiniger Serotonin-Verabreichung im Mittel 0,02 Imp./s und ist damit als gering einzuschätzen. Während der einhundert Sekunden andauernden Serotonin-Applikation stieg diese auf durchschnittlich 0,56 Imp./s und erreichte innerhalb der ersten 100 s nach der



Gabe von Serotonin einen mittleren Höchstwert von 1,07 Imp./s. Die anschließende Rückkehr zur Grundaktivität ist in der Abbildung gut zu sehen. Demzufolge spricht die Änderung der Impulswerte nach unseren Kriterien (bei einer  $GA < 1$  Imp./s Änderung um mindestens 0,5 Imp./s) für eine Erregung der Zelle durch Serotonin.

Des Weiteren kann man an diesem Histogramm sehen, dass auch eine Verabreichung des Transmitters Cholecystokinin erfolgte, diese Zelle aber mit keiner deutlichen Änderung der Aktivität reagierte. Das gleiche lässt sich bei der gemeinsamen Applikation von Serotonin und CCK-8S beobachten. Dies bedeutet, dass CCK-8S eine modulatorische Wirkung bei Koapplikationen zu besitzen scheint. Auf diesen Sachverhalt möchte ich in einem späteren Kapitel (4.5.) zu sprechen kommen.



**Abb. 5:** Darstellung des Frequenz-Zeit-Histogramms der Aktivität einer durch Serotonin gehemmten Zelle (Die grauen und weißen Balken spiegeln die Applikationsdauer (Zeitbezug = schwarzer 5 min-Balken) der aufgeführten Substanzen wider, die Zahlenwerte geben die jeweilige Austreibstromstärke in nA an.)

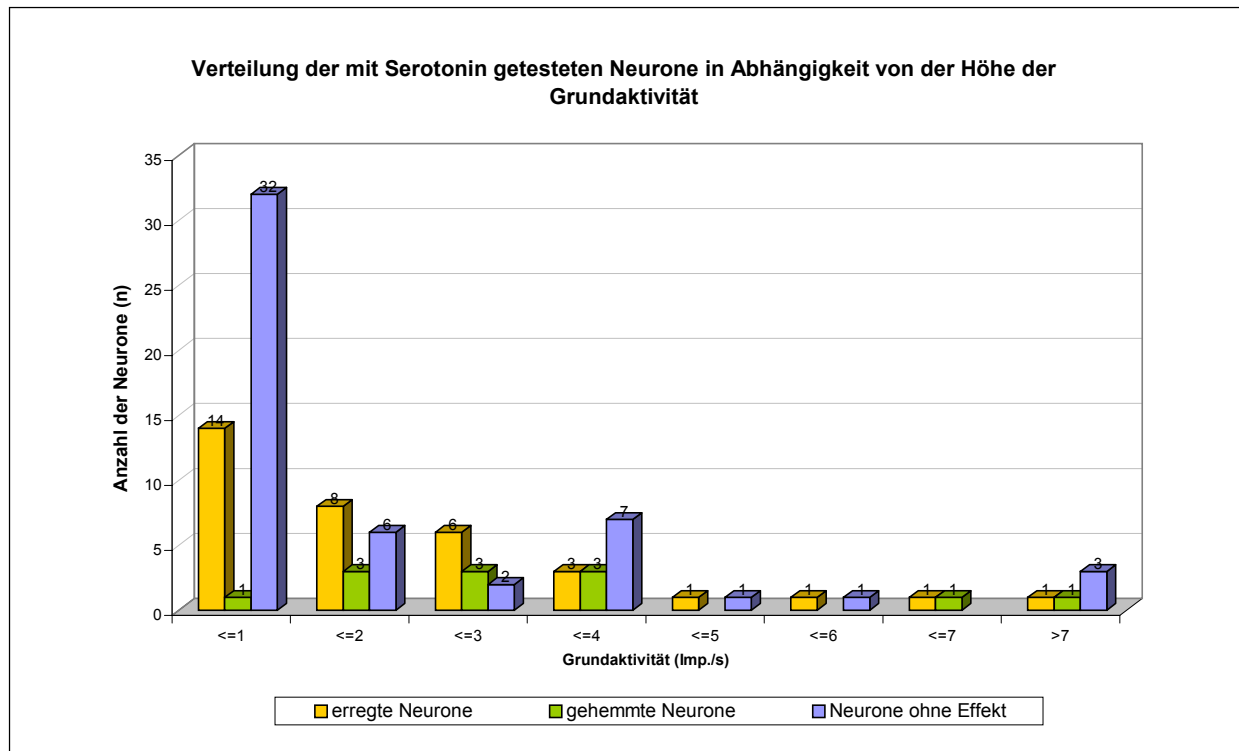
Die Abb. 5 gibt das Frequenz-Zeit-Histogramm der Aktivität einer durch Serotonin deutlich gehemmten striatalen Nervenzelle wieder. Hier lässt sich die mittlere Grundaktivität 100 s vor Applikation von Serotonin mit einem Wert von 3,37 Imp./s als mittelmäßig schnell einschätzen

(siehe Kapitel 4.2.1.). Während der 100-sekündigen Gabe von Serotonin verringerte sich die Entladungsrate um 54 % auf 1,55 Imp./s und erreichte während des anschließenden Zeitintervalls (100 s) einen Niedrigstwert von 0,5 Imp./s. Aufgrund der Stauchung dieses Histogramms ist die, im Vergleich zu der Aufzeichnungsdauer der Ausgangsentladungsrate vor der ersten CCK-8S-Applikation, relativ kurze Recovery-Periode unmittelbar vor der Serotonin-Applikation nur bedingt erkennbar. Darüber hinaus wurde an dieser Zelle, wie eben schon angedeutet, CCK-8S getestet, und es erfolgte sowohl bei alleiniger Gabe als auch bei Koapplikation mit Serotonin eine Erregung. Auch an dieser Stelle möchte ich auf eine spätere Abhandlung zu dem eben genannten Sachverhalt verweisen (Abschnitt 4.5.).

#### **4.2.1. Zusammenhang zwischen der Höhe der Grundaktivität und der Responsivität der Zellen auf Serotonin**

Im einleitenden Teil dieser Arbeit wurde detailliert auf die verschiedenen innerhalb des Striatum existierenden Neuronentypen sowie auf ihre zum Teil unterschiedlichen Spontanentladungsraten eingegangen. Interessant war es deshalb herauszufinden, ob sich nach der Analyse der Grundaktivitäten jedes hier untersuchten Neurons ableiten ließ, welchem Neuronentyp es jeweils angehört haben könnte und ob sich eine Abhängigkeit der Ansprechbarkeit auf Serotonin von der Höhe der Ausgangsentladungsrate der spontan aktiven Neurone ableiten ließ.

Dazu erfolgte zunächst die Bestimmung der mittleren Grundaktivität vor der jeweiligen Substanzapplikation, innerhalb eines adäquaten Zeitintervalls, zumeist die 100 s direkt vor der Substanzgabe. Anschließend wurde, zur besseren Übersicht, eine Unterteilung in 8 Grundaktivitätsbereiche und für jeden Bereich die Aufschlüsselung der jeweiligen Responsivität jedes Neurons vorgenommen. In der folgenden Abbildung 6 ist dieser Zusammenhang graphisch dargestellt. Um die Abbildung sowie die Beschreibung der Ergebnisse in den folgenden Abschnitten überschaubarer zu gestalten, fasste ich die Grundaktivitäten mit Werten zwischen 0 und 1 Imp./s zum Bereich  $\leq 1$  Imp./s, diejenigen mit Werten zwischen  $>1$  und 2 Imp./s zum Bereich  $\leq 2$  Imp./s usw. zusammen (Ausnahmen sind an entsprechender Stelle gekennzeichnet).



**Abb. 6:** Darstellung der Reaktionsweisen der 99 mit Serotonin getesteten striatalen Neurone in Abhängigkeit von der Höhe der Grundaktivität vor der Applikation der Substanz; Die Zahlen über den einzelnen Balken geben die jeweilige Anzahl der Neurone für diese Gruppe wieder.

Wie zu erkennen ist, lag die Spontanentladungsrate der Neurone, d.h. die Aktivität vor der Applikation von Serotonin in nahezu der Hälfte der Fälle im Bereich von  $\leq 1$  Imp./s. Die Verteilung der übrigen Zellen kann der Abbildung 6 entnommen werden.

Um die Fragestellung nach den potenziell beteiligten Neuronentypen beantworten zu können, erfolgt, beziehend auf die obengenannten Hinweise, in der Tabelle 4 ein Vergleich der Neuronengruppen mit einer Grundaktivität von  $\leq 2$  Imp./s (entspricht an dieser Stelle Werten zwischen 0 und 2 Imp./s) bzw.  $> 2$  Imp./s (entspricht hier den Werten zwischen  $> 2$  und  $> 7$  Imp./s) hinsichtlich ihrer Responsivität auf Serotonin.

**Tabelle 4**

Grundaktivität	Erregte Neurone	Gehemmte Neurone	Neurone ohne Effekt	
$\leq 2$ Imp./s	22	4	38	$\Sigma 64$
$> 2$ Imp./s	13	8	14	$\Sigma 35$
	$\Sigma 35$	$\Sigma 12$	$\Sigma 52$	$\Sigma 99$

Die Ergebnisse in dieser Tabelle zeigen, dass 64,6 %, also nahezu zwei Drittel der mit Serotonin untersuchten Neurone, mit einer Spontanentladungsrate von  $\leq 2$  Imp./s, also relativ langsam entluden. Die verbleibenden 35,4 % der Nervenzellen wiesen Spontanentladungsraten von  $> 2$  Imp./s auf, d.h. sie gehörten zu den schneller entladenden Neuronen.

Um herauszufinden, ob ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Responsivität der langsam ( $\leq 2$  Imp./s) bzw. schneller ( $> 2$  Imp./s) entladenden Population bestand, wurde ein Vergleich der Häufigkeiten responsiver und nichtresponsiver Zellen dieser beiden Neuronengruppen mit Hilfe des  $\chi^2$ -Testes durchgeführt. Er ergab eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p = 0,065$ , was bedeutet, dass der bestehende Unterschied der Responsivität auf Serotonin der beiden unterschiedlich schnell entladenden Neuronengruppen statistisch nicht signifikant ist.

### **4.3. Bestimmung der an den serotoninergeren Wirkungen beteiligten striatalen Rezeptorsubtypen**

#### **4.3.1. Wirkung des 5-HT<sub>1A/7</sub>-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT auf die neuronale Entladungsrate**

Nachdem nun der Einfluss von Serotonin auf die striatalen Neurone beschrieben wurde, soll in den folgenden Ausführungen eruiert werden, welche Serotonin-Rezeptorsubtypen involviert gewesen sein könnten. Zunächst soll auf die Datenpopulation eingegangen werden, die mit dem 5-HT<sub>1A/7</sub>-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT geprüft wurde.

Von den insgesamt 110 mit diesem Serotonin-Agonisten getesteten Neuronen wurden 26 (23,6 %) aktiviert und 13 (11,8 %) supprimiert. An 71 (64,6 %) striatalen Neuronen konnte keine relevante Änderung der Entladungsrate festgestellt werden.

Die Werte der jeweiligen mittleren Entladungsraten, die entsprechenden Mediane sowie die Standardabweichungen aller relevanten Zeitperioden (Kontroll-, frühe, späte, Recovery-Periode), sowohl für die durch 8-OH-DPAT erregte bzw. gehemmte, als auch für die gesamte mit dieser Substanz untersuchte Population, können der Tabelle 5 entnommen werden. Die Aufgliederung der Gesamtpopulation ( $n = 110$ ) in eine erregte und eine gehemmte Gruppe verdeutlicht hierbei

das Ausmaß der Veränderungen. Gleichzeitig sind in der Tabelle 5 die Irrtumswahrscheinlichkeiten p (WT) für alle darin betrachteten Neuronengruppen detailliert aufgeführt. Die geringen Irrtumswahrscheinlichkeiten in den jeweiligen späten Perioden aller drei Neuronengruppen, sowie auch die noch statistisch signifikanten Unterschiede der jeweiligen Recovery-Periode, im Vergleich zur Kontrollperiode, weisen darauf hin, dass die 8-OH-DPAT-induzierten Aktivitätsänderungen verzögert auftraten und lange anhielten.

**Tabelle 5**

	<b>Gesamtpopulation (n=110)</b>		<b>Erregte Gruppe (n=26)</b>		<b>Gehemmte Gruppe (n=13)</b>	
	MW [Median] ± SAW (Imp./s)	WT p	MW [Median] ± SAW (Imp./s)	WT p	MW [Median] ± SAW (Imp./s)	WT p
<b>Kontroll- periode</b>	2,17 [0,97] ± 2,95	/	2,69 [1,83] ± 3,36	/	2,72 [1,64] ± 3,33	/
<b>Frühe Periode</b>	2,32 [1,49] ± 3,04	0,003	3,49 [2,31] ± 3,95	0,001	2,15 [1,51] ± 2,18	0,133
<b>Späte Periode</b>	2,49 [1,13] ± 3,36	< 0,0001	4,37 [3,24] ± 4,44	< 0,0001	1,39 [0,83] ± 1,99	0,001
<b>Recovery</b>	2,28 [1,02] ± 3,11	0,014	3,39 [2,16] ± 4,14	0,003	1,58 [1,17] ± 1,25	0,012

Ein Vergleich der 8-OH-DPAT-induzierten Effekte mit denen, die durch Serotonin hervorgerufen wurden, lässt gewisse Parallelen erkennen. In beiden Populationen überwog bei den responsiven Neuronen die Aktivierung.

An den insgesamt 53 Neuronen, die sowohl mit Serotonin als auch mit 8-OH-DPAT getestet worden waren, konnten in vielen Fällen ähnliche Entladungsmuster beobachtet werden (siehe Abbildung 8).

Die Tabelle 6 zeigt eine Aufgliederung aller sowohl mit Serotonin als auch mit 8-OH-DPAT getesteten Neurone (n = 53) entsprechend ihrer jeweiligen Reaktivität. Wie daraus ersichtlich ist, zeigten von den 53 gemeinsam untersuchten Zellen 29 entweder auf beide Agonisten oder nur auf einen der beiden eine Reaktion.

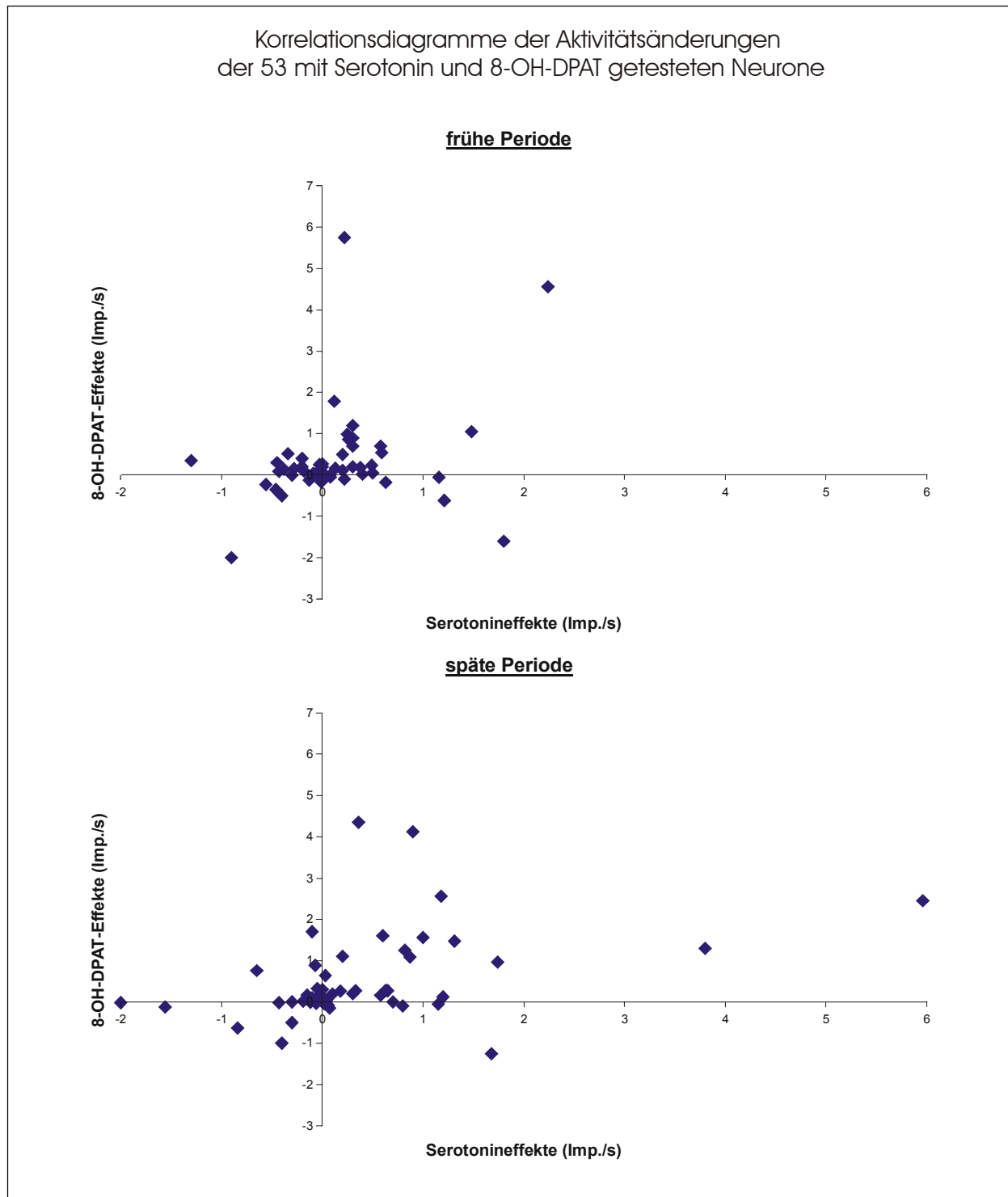
**Tabelle 6** (↑ = Aktivierung; ↓ = Hemmung; Ø = keine Antwort)

<b>n = 53</b>	<b>Reaktion auf 5-HT und 8-OH-DPAT</b>			<b>Reaktion entweder auf 5-HT oder auf 8-OH-DPAT</b>			<b>Keine Antwort auf beide Substanzen</b>
<b>Anzahl pro Gruppe</b>	15 (28,3 %)			14 (26,4 %)			24 (45,3 %)
<b>Anzahl und Reaktivität pro Untergruppe</b>		<b>Serotonin</b>	<b>8-OH-DPAT</b>		<b>Serotonin</b>	<b>8-OH-DPAT</b>	
	12	↑	↑	↑	7	4	
	1	↓	↓	↓	2	1	
	1	↑	↓	Ø	5	9	
	1	↓	↑				

Auffällig an den Ergebnissen der Tabelle 6 ist, dass in der Gruppe, in welcher die Neurone auf beide Substanzen reagierten (n = 15), die Aktivierung durch beide Agonisten im Vordergrund stand (80 %). Insgesamt ist die 8-OH-DPAT-induzierte Responsivitätsrate dieser Population mit 37,7 % vergleichbar mit der durch Serotonin hervorgerufenen (45,3 %).

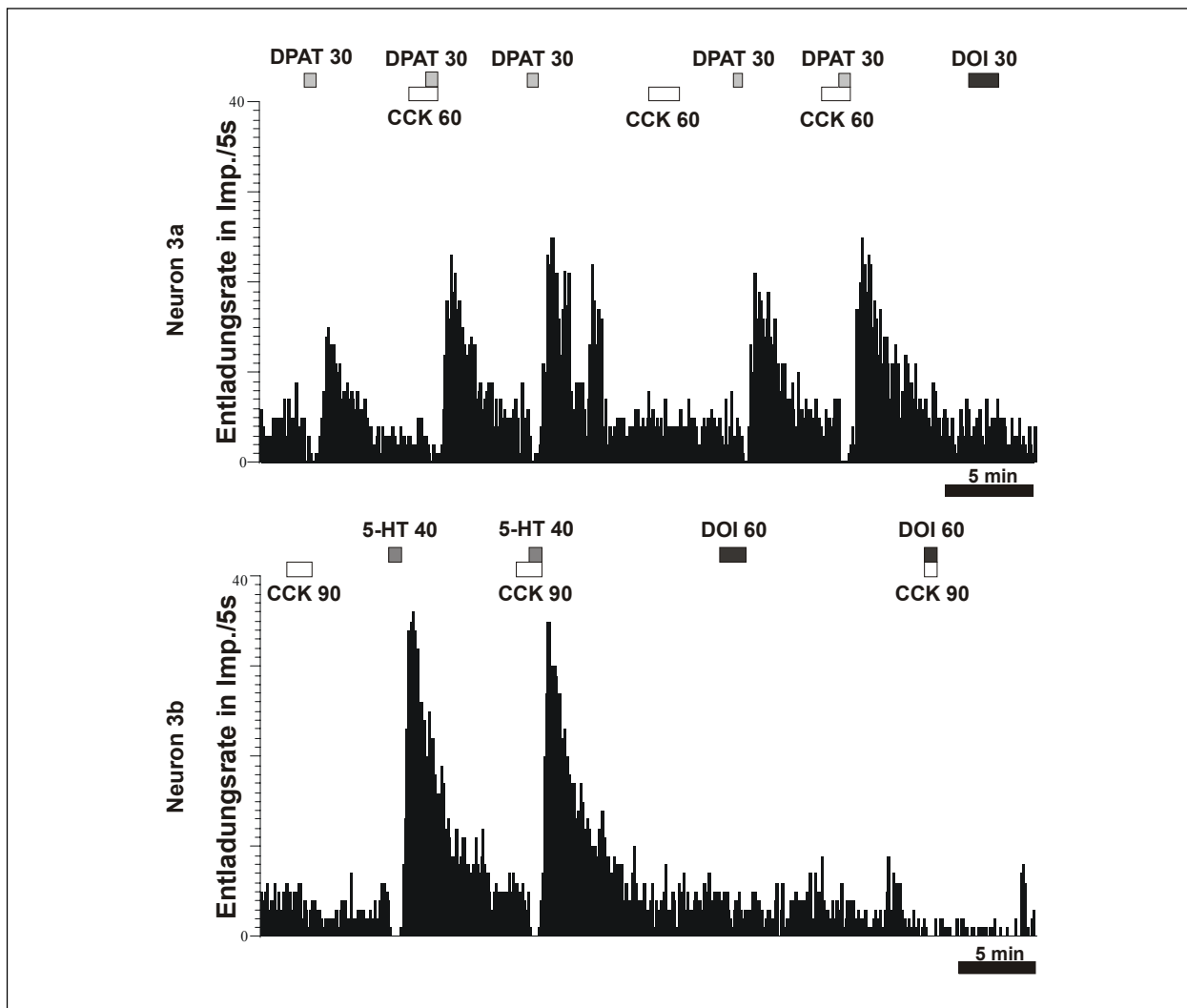
In der Gruppe, in der die Neurone nur auf eine der beiden Substanzen reagierten, überwog in der Hälfte dieser Neurone der aktivierende Effekt durch Serotonin, und in annähernd einem Drittel dieser Fälle (28,6 %) führte ausschließlich 8-OH-DPAT zu einer signifikanten Erhöhung der Entladungsraten.

In den beiden folgenden Korrelationsdiagrammen (Abb. 7) sind die in den frühen bzw. späten Perioden aufgetretenen Effekte (= Differenz der Entladungsrate unter Substanzgabe zu der entsprechenden Grundaktivität) der 53 mit Serotonin und 8-OH-DPAT getesteten Neurone dargestellt. Die Ermittlung der Spearmanschen Korrelationskoeffizienten für die frühen ( $r_1$ ) bzw. die späten ( $r_2$ ) Perioden dieser Gesamtpopulation (n = 53) ergab Werte von  $r_1 = 0,243$  bzw.  $r_2 = 0,437$ , welche mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit p von 0,04 (frühe Phase) bzw. < 0,001 (späte Phase) als signifikant einzuschätzen waren. Die letztgenannten Ergebnisse verdeutlichen, dass die betrachteten Effekte besonders stark in den späten Perioden korrelierten, was auch in der folgenden Abbildung 7 ersichtlich wird.



**Abb. 7:** Gegenüberstellung der Effekte der frühen bzw. späten Perioden der gesamten 53 Neurone, denen sowohl Serotonin als auch 8-OH-DPAT appliziert wurde (Abszisse: Differenz der Impulsraten (pro s) der 53 Neurone unter Serotoningabe zu den jeweiligen Ruheentladungsraten; Ordinate: Differenz der Impulsraten (pro s) der 53 Neurone unter 8-OH-DPAT-Gabe zu den jeweiligen Ruheentladungsraten).

Nachfolgend (Abb. 8) werden die Frequenz-Zeit-Histogramme der Aktivität eines Neurons aufgeführt, welche u.a. zeigen, dass Serotonin und 8-OH-DPAT ähnliche Entladungsmuster hervorriefen, hier in beiden Fällen eine nach einer anfänglich kurzzeitigen Hemmung folgende Aktivierung, wobei die Serotonin-induzierte Impulsrate quantitativ ein höheres Niveau aufwies. Allerdings sind hierbei weder die Konzentration der Substanzen noch die Austreibströme vergleichbar. Die mehrfache Applikation von 8-OH-DPAT lässt erkennen, dass die Antwort vom Typ her reproduzierbar ist, die Größe aber etwas variieren kann.



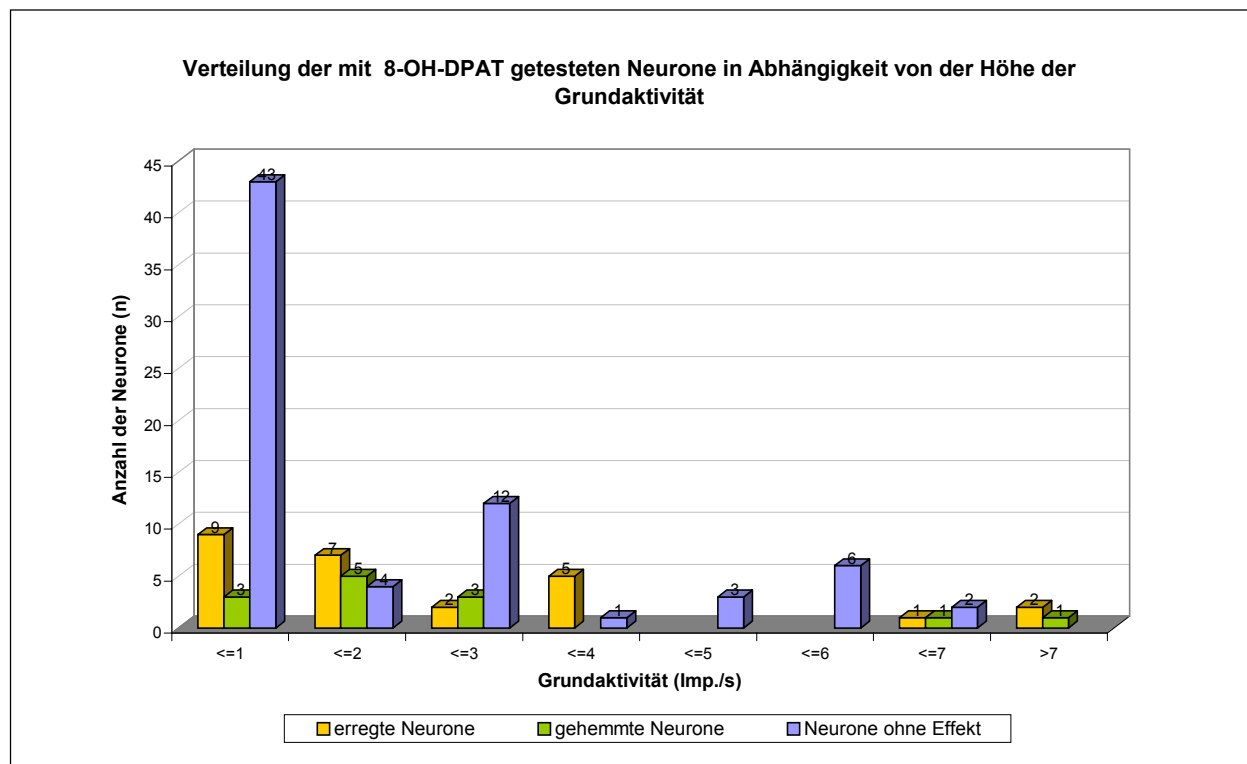
**Abb. 8:** Frequenz-Zeit-Histogramme der Aktivität eines Neurons mit gleichartiger Responsivität gegenüber Serotonin und 8-OH-DPAT, nicht jedoch gegenüber Serotonin und DOI bzw. CCK-8S (Die unterschiedlich getönten Balken geben die Applikationsdauer (Zeitbezug = schwarze 5 min-Balken) der aufgeführten Substanzen, die Zahlen neben den Substanzen die benutzte Austreibstromstärke (in nA) an.)



Zusätzlich ist dargestellt, dass keine oder zumindest eine nur geringe Reaktion auf CCK-8S und den 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptoragonisten DOI, zwei Substanzen, auf die ich später noch eingehen werde, erfolgte. Des Weiteren ist ersichtlich, dass eine Koapplikation jeweils aller drei Serotonin-Rezeptoragonisten mit Cholecystokinin keine bzw. keine deutliche Änderung der vorherigen Antworten (bei alleiniger Gabe der Substanzen) verursachte.

#### 4.3.1.1. Zusammenhang zwischen der Höhe der Grundaktivität und der Responsivität der Zellen auf 8-OH-DPAT

Bezüglich der mit dem 5-HT<sub>1A/7</sub>-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT untersuchten Neuronenpopulation (n = 110) soll in diesem Abschnitt darauf eingegangen werden, ob die Höhe der Ausgangsaktivität einen Einfluss auf die Antwortbereitschaft der Zellen auf die Gabe dieses Serotoninagonisten hatte.



**Abb. 9:** Darstellung der Reaktionsweisen der 110 mit 8-OH-DPAT getesteten striatalen Neurone in Abhängigkeit von der Höhe der Grundaktivität vor Applikation der Substanz. Die Zahlen über den einzelnen Balken geben die jeweilige Anzahl der Neurone für diese Gruppe wieder.

Dazu wurden zunächst, analog wie im Kapitel 4.2.1., die Grundaktivitäten der Zellen in acht Teilbereiche, von  $\leq 1$  bis  $> 7$  Imp./s, aufgeteilt und für jeden Bereich die jeweilige Neuronenanzahl, je nach Reaktivität, bestimmt (Abb. 9).

Analog zu den mit Serotonin untersuchten Neuronen auch, wiesen 50 % ( $n = 55$ ) der mit 8-OH-DPAT untersuchten Gesamtpopulation Ruheentladungsraten von  $\leq 1$  Imp./s auf. Eine hohe Anzahl ( $n = 16$ ) der durch 8-OH-DPAT erregten Zellen zeigte Grundaktivitäten von  $\leq 2$  Imp./s (siehe Abb. 9 und Tabelle 7). Die übrigen zehn aktivierten Neurone hatten Spontanentladungsraten von  $> 2$  Imp./s, deren genauere Verteilung der Abbildung 9 entnommen werden kann.

**Tabelle 7**

<b>Grundaktivität</b>	<b>Erregte Neurone</b>	<b>Gehemmte Neurone</b>	<b>Neurone ohne Effekt</b>	
$\leq 2$ Imp./s	16	8	47	$\Sigma 71$
$> 2$ Imp./s	10	5	24	$\Sigma 39$
	$\Sigma 26$	$\Sigma 13$	$\Sigma 71$	<b><math>\Sigma 110</math></b>

Im Gegensatz zu der durch Serotonin gehemmten Population (siehe Tabelle 4) hatte der größere Anteil (61,5 %) der insgesamt 13 durch 8-OH-DPAT supprimierten Zellen eine Grundaktivität von  $\leq 2$  Imp./s (Tabelle 7 – die Einteilung der beiden Grundaktivitätsbereiche entspricht der von Tabelle 4).

Ein Vergleich der Responsivität beider in der Tabelle 7 angegebenen Entladungsgruppen ergab kein signifikantes Ergebnis im  $\chi^2$ -Test ( $p = 0,655$ ) und deutet damit, genauso wie bei der Serotoninpopulation auch, auf keinen Unterschied hinsichtlich der Ansprechbarkeit der langsam bzw. schnell entladenden Neurone hin.

#### 4.3.2. Wirkung der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorantagonisten WAY 100635 und S-UH 301 auf die 8-OH-DPAT-induzierten Effekte

Es konnte im vorangegangenen Abschnitt gezeigt werden, dass in etwas mehr als einem Drittel der Zellpopulation Effekte durch 8-OH-DPAT auftraten. Es gilt nun zu eruieren, ob diese Zellantworten wirklich 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-vermittelt waren, da eine gewisse, wenn auch nur geringe Affinität des 8-OH-DPAT zum 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptorsubtypen bekannt ist (Ruat et al., 1993b). Dazu führten wir eine Versuchsreihe mit den beiden selektiven 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Antagonisten WAY 100635 und S-UH 301 durch und testeten insgesamt 20 8-OH-DPAT-responsive Zellen, wobei 11 von ihnen aktiviert und die übrigen 9 durch 8-OH-DPAT gehemmt worden waren. Diese Population wurde entweder mit beiden 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorantagonisten oder nur mit einem der zwei geprüft. Dabei galten die im Abschnitt 3.6. genannten Block-Kriterien. An elf striatalen Neuronen wurde nur der Einfluss von WAY 100635 auf die 8-OH-DPAT-induzierte Responsivität getestet und an sechs Zellen allein der von S-UH 301. Ob beide 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorantagonisten die Fähigkeit besaßen, die Antwort der jeweils selben Zelle zu blockieren, wurde an drei Neuronen untersucht. In der Tabelle 8 ist im Detail aufgeführt, welchen Einfluss WAY 100635 und S-UH 301 auf die durch 8-OH-DPAT erregten bzw. gehemmten Neurone hatten.

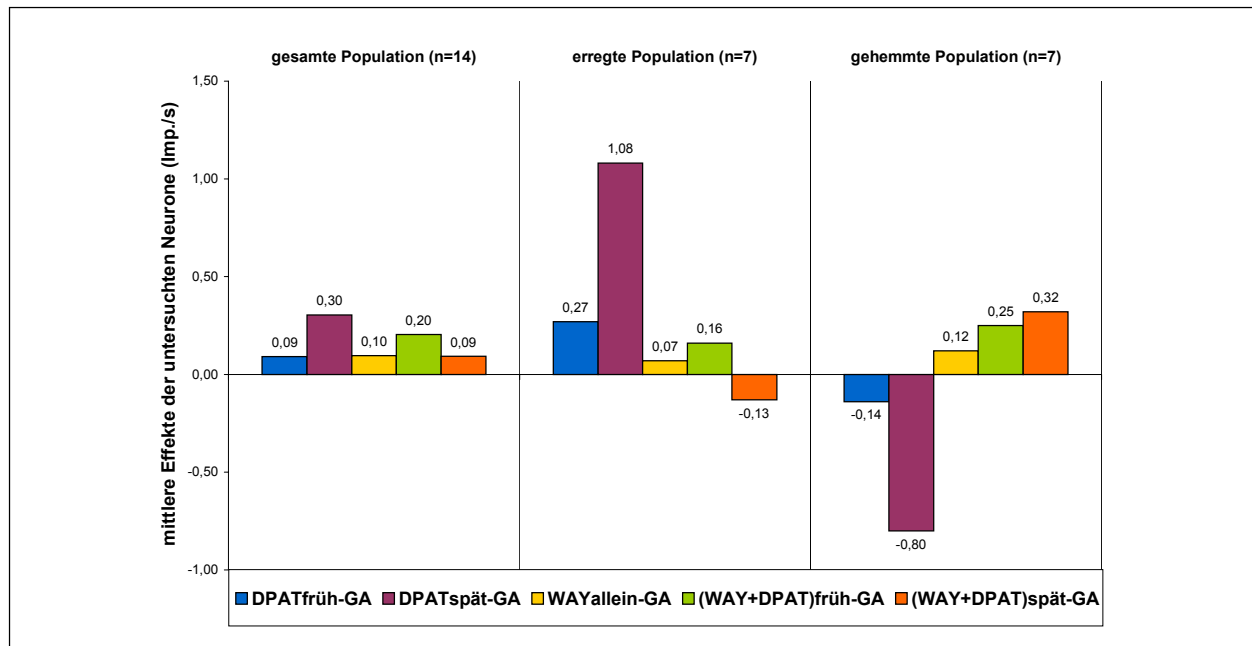
**Tabelle 8**

<b>n = 20</b>	<b>Exzitation durch 8-OH-DPAT</b>	<b>Inhibition durch 8-OH-DPAT</b>	
<b>Block durch WAY 100635</b>	4	5	<b>Σ 17 (85 %)</b>
<b>Block durch S-UH 301</b>	4	1	
<b>Block durch beide 5-HT<sub>1A</sub>- Antagonisten</b>	2	1	
<b>Kein Block</b>	1	2	<b>Σ 3 (15 %)</b>
	<b>Σ 11</b>	<b>Σ 9</b>	

Von den drei nicht blockierten Neuronen wurde ein durch 8-OH-DPAT inhibiertes Neuron nur mit S-UH 301, die anderen beiden nur mit WAY 100635 getestet. Es wird deutlich, dass insgesamt nur 15 % der Population nicht auf die Gabe eines der beiden 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorantagonisten reagierten. Die 8-OH-DPAT-induzierten Antworten der übrigen Neurone (85 %), inklusive der drei Zellen, die mit beiden Antagonisten geprüft worden waren, konnten verhindert oder zumindest deutlich reduziert werden.

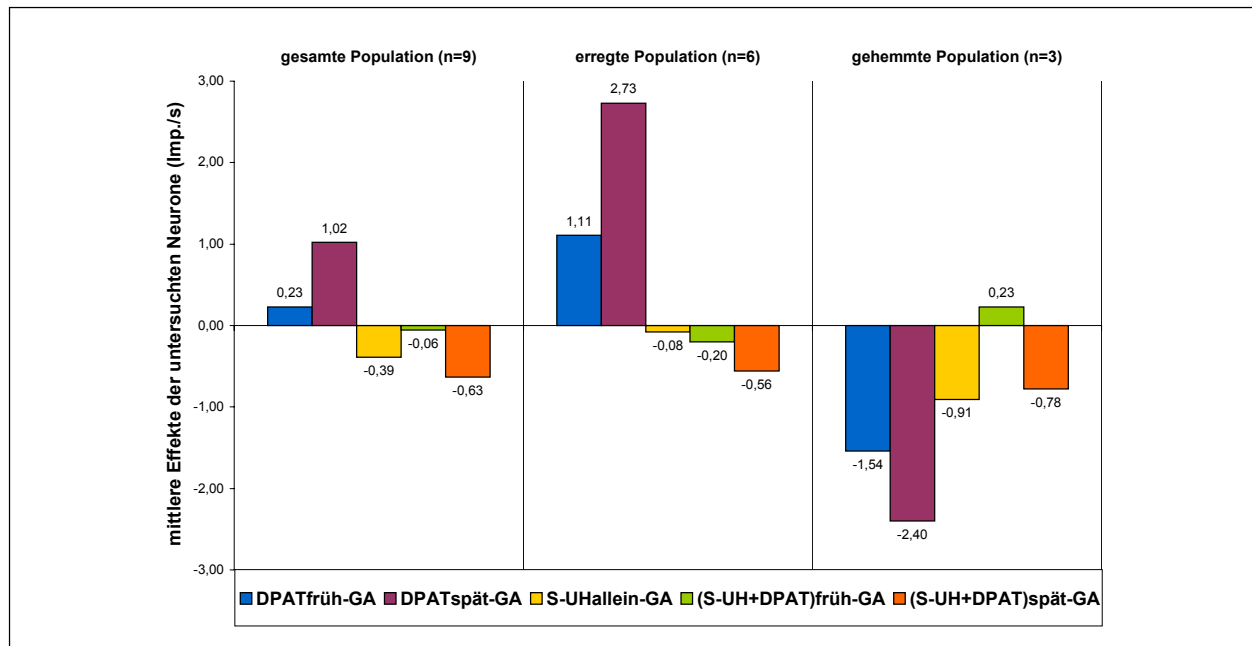
Um die Blockierung der Effekte von 8-OH-DPAT auch statistisch zu verifizieren, wurde die mit WAY 100635 getestete Population (n = 14) zum einen in eine durch den 5-HT<sub>1A/7</sub>-Rezeptoragonisten aktivierte Gruppe und zum anderen in eine gehemmte unterteilt (siehe Abb. 10). Da die durch 8-OH-DPAT hervorgerufenen Effekte erst spät auftraten (siehe Kapitel 4.3.1.), ergab sich im Wilcoxon-Test für die alleinige 8-OH-DPAT-Applikation in beiden Gruppen eine Signifikanz jeweils nur in der späten Periode (mit p = 0,018 für beide Gruppen). Der Wilcoxon-Test ergab für die alleinige WAY-Gabe sowohl in der erregten als auch in der gehemmten Gruppe jeweils eine Irrtumswahrscheinlichkeit p = 1,0. Zwar änderten drei Neurone durch WAY 100635 ihre Entladungsrate um mehr als 25 % (eine Hemmung, zwei Aktivierungen), jedoch zeigte sich nach Durchführung des Wilcoxon-Tests in beiden Teilpopulationen keine vorherrschende Richtungsänderung hinsichtlich der WAY-induzierten Zellaktivitäten, was somit darauf hinweist, dass die alleinige Antagonistengabe keinen oder zumindest nur einen geringen Einfluss auf die gehemmte bzw. aktivierte Neuronengruppe hatte. Ebenfalls nichtsignifikante Ergebnisse im Wilcoxon-Test ergaben sich beim Vergleich der Grundaktivität mit der durch Koapplikation des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorantagonisten WAY 100635 mit 8-OH-DPAT beeinflussten Population (WT für die erregte Gruppe: p = 0,735 [frühe Periode] und p = 0,866 [späte Periode]; WT für die gehemmte Gruppe: p = 0,498 [frühe Periode] und p = 0,866 [späte Periode]).

Für die jeweiligen mit WAY 100635 (n = 14) bzw. mit S-UH 301 (n = 9) getesteten Gesamtpopulationen (erregte und gehemmte Gruppe zusammen) erfolgte ebenfalls die Ermittlung der Irrtumswahrscheinlichkeiten p im Wilcoxon-Test für verschiedene Zeitperioden. Da hierbei jedoch keine signifikanten Ergebnisse ermittelt werden konnten, wird auf die Erwähnung der einzelnen Irrtumswahrscheinlichkeiten verzichtet.



**Abb. 10:** Darstellung der jeweiligen mittleren Effekte (entsprechen den mittleren Differenzen der Entladungsraten der in der Legende angegebenen Zeitperioden in Imp./s = Zahlen über den Balken) der insgesamt 14 mit 8-OH-DPAT und WAY 100635 getesteten striatalen Neurone für die gesamte, die erregte sowie die gehemmte Population

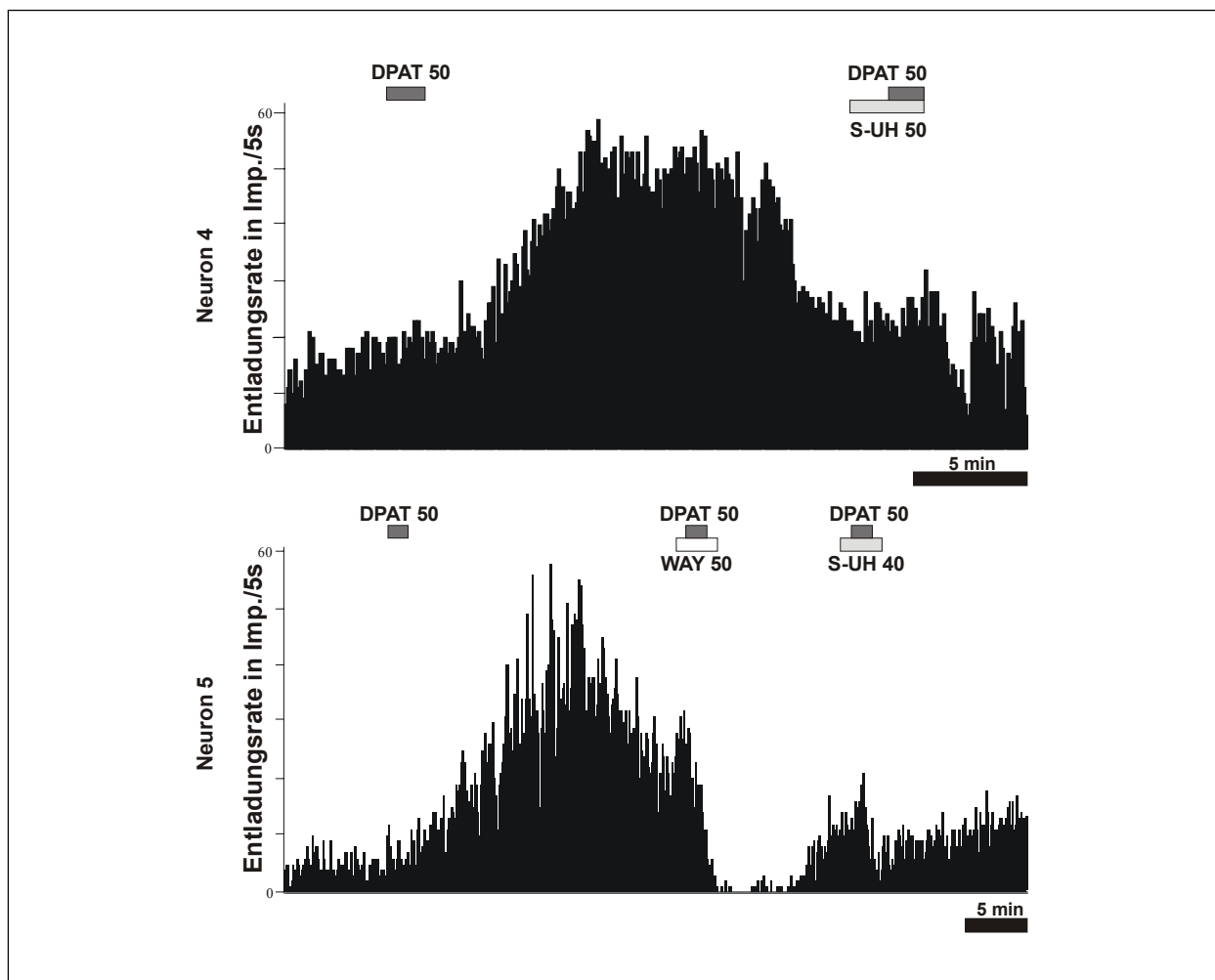
In dem Histogramm der Abbildung 10 erfolgt eine Zusammenstellung der mittleren Effekte der mit 8-OH-DPAT und dem 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorantagonisten WAY 100635 getesteten Population. Diese Effekte ergaben sich aus den mittleren Differenzen der in der Legende aufgeführten Zeitperioden. Besonders in den beiden Teilpopulationen (erregte und gehemmte Gruppe) wird deutlich, dass der ursprüngliche 8-OH-DPAT-Effekt (Erregung bzw. Hemmung) durch die gemeinsame Applikation mit WAY 100635 abgeschwächt bzw. sogar gänzlich umgekehrt wurde, was besonders im Histogramm der gehemmten Population deutlich wird. Sowohl in der gesamten als auch in den beiden Teilpopulationen hatte die alleinige Gabe des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorantagonisten WAY 100635 keine wesentlichen Wirkungen auf die Entladungsraten der untersuchten Neurone.



**Abb. 11:** Darstellung der jeweiligen mittleren Effekte (entsprechen den mittleren Differenzen der Entladungsraten der in der Legende angegebenen Zeitperioden in Imp./s = Zahlen über den Balken) der insgesamt 9 mit 8-OH-DPAT und S-UH 301 getesteten striatalen Neurone für die gesamte, die erregte sowie die gehemmte Population

Analog zur vorangegangenen Betrachtungsweise erfolgt auch in der Abbildung 11 die Darstellung der mittleren Effekte in allen relevanten Zeitperioden der mit S-UH 301 und 8-OH-DPAT untersuchten Population. Besonders deutlich nachvollziehbar ist der blockierende S-UH-301-Effekt in der durch 8-OH-DPAT aktivierten Neuronengruppe. Hier wird die starke Erregung, welche vor allem in der späten 8-OH-DPAT-Phase auftrat, durch die Koapplikation mit S-UH 301 verhindert bzw. sogar umgekehrt. In der durch 8-OH-DPAT gehemmten Population zeigte sich eine Effekturnkehr einzig während der frühen Phase der Koapplikation von S-UH 301 und 8-OH-DPAT. In der späten Periode hatte die kombinierte Verabreichung des Antagonisten mit 8-OH-DPAT eine weniger starke Hemmung, im Vergleich zur separaten 8-OH-DPAT-Gabe zur Folge.

Am Beispiel der Neurone 4 und 5 in der nachfolgenden Abbildung 12 sei die Wirkung der beiden 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorantagonisten dargestellt. Man kann sehen, dass bei beiden Neuronen die 8-OH-DPAT-induzierten Exzitationen wirksam durch S-UH 301 blockiert wurden und es dabei in beiden Fällen sogar zu einer kurzzeitigen schwachen Inhibition kam. In Neuron 5 kam außerdem WAY 100635 zur Anwendung und rief eine Blockierung der 8-OH-DPAT-induzierten Neuronenantwort hervor. Man kann an den vorangegangenen Ausführungen sehen, dass beide Antagonisten eine vergleichbare Wirksamkeit besaßen, den 8-OH-DPAT-induzierten Effekt zu blockieren.



**Abb. 12:** Darstellung der Frequenz-Zeit-Histogramme der Aktivität zweier striataler Neurone, bei denen S-UH 301 bzw. WAY 100635 die jeweils 8-OH-DPAT-induzierte Aktivierung wirksam blockierten. (Die unterschiedlich getönten Balken geben die Applikationsdauer (Zeitbezug = schwarze 5 min-Balken) der aufgeführten Substanzen, die Zahlen neben den Substanzen die benutzte Austreibstromstärke (in nA) an).

Zum Vergleich wurde die Antagonistenwirkung auch an 5 Neuronen getestet, die in allen Fällen einen Anstieg der Entladungsraten nach separater Serotonin-Applikation zu verzeichnen hatten. An den gesamten 5 Zellen wurde die Wirksamkeit von WAY 100635 getestet und an 3 dieser 5 Neurone zusätzlich auch der Einfluss von S-UH 301. Wie in der Tabelle 9 zu sehen ist, wurde nur an 2 Zellen ein Block beobachtet.

**Tabelle 9**

<b>n = 5</b>	<b>Aktivierung durch Serotonin</b>
<b>Block durch WAY 100635</b>	<b>1</b>
<b>Block durch S-UH 301</b>	<b>/</b>
<b>Block durch beide 5-HT<sub>1A</sub>-Antagonisten</b>	<b>1</b>
<b>Kein Block</b>	<b>3</b>

Aufgrund des sehr geringen Stichprobenumfanges ist es in diesem Fall schwierig, eine Aussage über die Wirksamkeit der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorantagonisten zu treffen. Da es zumindest in 40 % der Gesamtpopulation zu einem Block durch WAY 100635 und/oder S-UH 301 kam, ist die Annahme eines Vorkommens von 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren an diesen untersuchten Neuronen berechtigt.

#### **4.3.3. Wirkung des 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptoragonisten DOI auf die neuronale Entladungsrate**

Wie in den Abschnitten 1.1.5.2. und 2. berichtet, wurde in verschiedenen Untersuchungen das Vorhandensein von 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren im Striatum nachgewiesen. Deshalb galt es zu prüfen, welche Effekte dieser Rezeptorsubtyp im Striatum vermittelt.

An einer Gesamtpopulation von n = 66 erfolgte die mikroiontophoretische Applikation des 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptoragonisten DOI. Dabei konnte beobachtet werden, dass, umgekehrt zu den Serotonin- bzw. 8-OH-DPAT-induzierten Effekten, bei den responsiven Neuronen die Suppression überwog. An 8 (12,1 %) Neuronen führte die DOI-Gabe zu einer Verminderung der Entladungsraten und an 6 (9,1 %) der 66 untersuchten Zellen induzierte DOI eine Erhöhung der Impulsraten. Die verbleibenden 52 (78,8 %) Neurone blieben von DOI unbeeinflusst. Damit ergibt sich, im Vergleich zu den mit Serotonin und 8-OH-DPAT getesteten Populationen, eine



weitaus geringere Antwortrate der untersuchten Neurone, was, zusammen mit den unterschiedlichen Effekten, auch das nichtsignifikante Ergebnis im Wilcoxon-Test (Tabelle 10) in den frühen bzw. späten Perioden erklärt. Zur besseren Effekteinschätzung erfolgt in der Tabelle 10 eine Auflistung der Mittelwerte und der Mediane sowie zusätzlich der Standardabweichungen und gegebenenfalls der Irrtumswahrscheinlichkeiten p für die gesamte Population sowie für die durch DOI erregte bzw. gehemmte Gruppe.

**Tabelle 10**

	<b>Gesamtpopulation (n=66)</b>		<b>Gehemmte Gruppe (n=8)</b>		<b>Erregte Gruppe (n=6)</b>
	MW [Median] ± SAW (Imp./s)	WT p	MW [Median] ± SAW (Imp./s)	WT p	MW [Median] ± SAW (Imp./s)
<b>Kontroll- periode</b>	2,12 [0,71] ± 3,96	/	1,64 [1,46] ± 0,98	/	1,06 [1,10] ± 0,78
<b>Frühe Periode</b>	2,14 [0,74] ± 3,98	0,699	1,37 [1,15] ± 0,90	0,036	1,62 [1,56] ± 0,78
<b>Späte Periode</b>	2,06 [0,62] ± 3,97	0,330	0,82 [0,37] ± 0,87	0,012	1,45 [1,14] ± 0,94
<b>Recovery</b>	2,17 [0,72] ± 4,1	0,023	1,07 [0,76] ± 1,00	0,028	1,05 [1,22] ± 0,65

In der Gesamtpopulation lagen der Mittel- sowie der Medianwert der Recovery-Periode höher im Vergleich zu den Werten der Kontrollperiode und es ergab sich eine Signifikanz im Sinne eines Überwiegens von Zellaktivierungen, was einen verspäteten DOI-Effekt nahe legt. In der gehemmten Population, in der ebenfalls während der Recovery-Phase signifikante Änderungen der Entladungsraten im Sinne des Vorherrschens von Hemmungen auftraten, schien die Rückkehr zur Ruheaktivität verzögert zu sein.

An insgesamt 42 Neuronen konnte sowohl der Effekt von DOI als auch der von Serotonin geprüft werden. Dabei wiesen 23 von ihnen entweder auf beide oder nur auf einen der beiden Agonisten einen Effekt auf (siehe Tabelle 11). Bei der Gegenüberstellung der DOI-induzierten zu den Serotonin-induzierten Wirkungen auf die 42 Neurone konnte festgestellt werden, dass der mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p = 0,008$  signifikante Korrelationskoeffizient  $r_1$  der frühen Periode mit 0,369 höher war als der von 8-OH-DPAT und Serotonin, jedoch lag der

Spearman'sche Korrelationskoeffizient  $r_2$  der späten Phase mit einem Wert von 0,046 deutlich unter dem der mit 8-OH-DPAT und Serotonin getesteten Population (siehe Abschnitt 4.3.1.) und wies außerdem eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p = 0,386$  auf. Da sich somit kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den DOI- bzw. Serotonin-induzierten Effekten in den späten Phase ergab, kann angenommen werden, dass die serotoninergeren Effekte dieser Population, zumindest in der späten Periode, nicht 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptor-vermittelt gewesen waren.

Eine detaillierte Zusammenstellung der jeweiligen Reaktionen jedes einzelnen der 42 sowohl mit DOI als auch mit Serotonin untersuchten Neurone wurde in der Tabelle 11 vorgenommen.

**Tabelle 11** (↑ = Aktivierung; ↓ = Hemmung; Ø = keine Antwort)

n = 42	Reaktion auf 5-HT und DOI			Reaktion entweder auf 5-HT oder auf DOI			Keine Antwort auf beide Substanzen
Anzahl pro Gruppe	6 (14,3 %)			17 (40,5 %)			19 (45,2 %)
Anzahl und Reaktivität pro Untergruppe		Serotonin	DOI		Serotonin	DOI	
	4	↑	↑	↑	8	2	
	1	↓	↓	↓	4	3	
	1	↑	↓	Ø	5	12	

Wie zu sehen ist, kamen nur an insgesamt 5 (11,9 %) der mit beiden Agonisten getesteten Neurone gleichartige Effekte vor, wobei hier eine Aktivierung der Zellen im Vordergrund stand. An einem Neuron traten entgegengesetzte Antworten auf. Insgesamt zeigten von diesen 42 Neuronen nur 26,2 % einen Effekt auf DOI, wohingegen auf Serotonin 42,9 % der Zellen mit einer signifikanten Änderung der Entladungsraten reagierten. Es ergibt sich in dieser Population, im Gegensatz zu der von 8-OH-DPAT und Serotonin, eine stärkere Dominanz der Serotonin-induzierten Effekte gegenüber den durch DOI hervorgerufenen.

#### **4.3.3.1. Die Höhe der Grundaktivität und die jeweilige Responsivität der Zellen auf DOI**

Wie eingangs im Abschnitt 4.3.3. beschrieben, liegt das Gesamtantwortverhalten dieser Population mit 21,2 % DOI-responsiven Neuronen weit unterhalb der Serotonin- bzw. 8-OH-DPAT-induzierten Responsivität.

Die insgesamt 6 durch DOI aktivierten Neurone verteilten sich je zur Hälfte auf die Grundaktivitätsbereiche von  $\leq 1$  bzw.  $\leq 2$  Imp./s. Jeweils 3 gehemmte Zellen waren ebenfalls in den ersten beiden Grundaktivitätsbereichen anzutreffen und die verbleibenden 2 Neurone, deren Entladungsraten durch DOI verringert worden waren, hatten Ausgangsentladungsraten von jeweils  $\leq 3$  bzw.  $\leq 4$  Imp./s.

Von den 52 nicht auf DOI reagierenden Zellen fanden sich 33 in der langsamsten Spontanaktivitätsgruppe von  $\leq 1$  Imp./s. Die Verteilung der anderen 19 nicht-responsiven Neurone auf die verbleibenden Grundaktivitätsbereiche war relativ gleichmäßig (5 Neurone mit  $> 7$  Imp./s, je 3 mit  $\leq 2$ ,  $\leq 3$  bzw.  $\leq 4$  Imp./s, je 2 mit  $\leq 5$  bzw.  $\leq 7$  Imp./s und 1 mit  $\leq 6$  Imp./s).

Nimmt man auch für diese Population eine Einteilung der responsiven und nicht-responsiven Neurone in Zellen mit einer Grundaktivität von  $\leq 2$  bzw.  $> 2$  Imp./s vor, entsprechend der Einteilung der Tabellen 4 und 7, und prüft die Häufigkeitsverteilung mit Hilfe des  $\chi^2$ -Testes, so lässt sich auch hierbei keine Abhängigkeit der Responsivität von der Höhe der jeweiligen Spontanentladungsrate erkennen (Irrtumswahrscheinlichkeit  $p$  des  $\chi^2$ -Testes = 0,22). Mehr als zwei Drittel ( $n = 48$  bzw. 72,7 %) der mit DOI untersuchten Nervenzellen wiesen Ruheentladungsraten von  $\leq 2$  Imp./s auf, wobei 36 dieser 48 Neurone auf die Gabe von DOI keinen Effekt gezeigt hatten.

#### **4.3.4. Wirkung des 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptorantagonisten Ketanserin auf die DOI-vermittelten Effekte**

Stichprobenhaft wurde überprüft, ob die durch DOI induzierten Zellantworten durch den an die 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptorsubtypen selektiv bindenden Antagonisten Ketanserin zu verhindern waren.

An 2 von insgesamt 3 Neuronen, deren Entladungsraten nach alleiniger DOI-Gabe verringert worden waren, führte Ketanserin zu einer Blockierung des DOI-Effektes. Eine gemeinsame Prüfung von Serotonin und Ketanserin erfolgte nicht.

#### 4.3.5. Serotonin, 8-OH-DPAT und DOI – eine gemeinsame Betrachtung

Nachdem nun die Wirkung jedes einzelnen in der vorliegenden Studie genutzten Serotonin-Rezeptoragonisten betrachtet worden ist, soll an dieser Stelle beleuchtet werden, ob und in welchem Ausmaß diese ihre Wirkungen am selben Neuron vermitteln und inwiefern mittels dieser Ergebnisse das gleichzeitige Vorkommen von Serotonin-Rezeptorsubtypen, im speziellen das der 5-HT<sub>1A</sub>- bzw. 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptoren, an striatalen Neuronen angenommen werden kann. Für die Betrachtung dieses Aspektes stand eine Anzahl von insgesamt 37 Neuronen zur Verfügung, an denen neben Serotonin sowohl der 5-HT<sub>1A/7</sub>-Rezeptoragonist 8-OH-DPAT als auch der 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptoragonist DOI getestet worden war. Zunächst wird in der Tabelle 12 für jedes Neuron dieser Population die Richtung der Responsivität auf die Gabe der drei genannten Agonisten im Detail angegeben.

**Tabelle 12**

n = 37		Antwort auf Serotonin		
Antwort auf DOI	Antwort auf 8-OH-DPAT	Aktivierung	Hemmung	Keine Antwort
Aktivierung	Aktivierung	3		1
	Hemmung			
	Keine Antwort			1
Hemmung	Aktivierung		1	
	Hemmung			
	Keine Antwort	1		
Keine Antwort	Aktivierung	4		3
	Hemmung		1	1
	Keine Antwort	4	2	15

Wie man der Tabelle entnehmen kann, zeigten 40,5 % aller Neurone ( $n = 15$ ) dieser Stichprobe auf die Gabe aller drei Serotonin-Rezeptoragonisten keinen relevanten Effekt. Ein Gesamtumfang von 4 (10,8 %) Neuronen reagierte auf alle Agonisten, wobei an 3 von ihnen die Serotonin-Rezeptoragonisten ausnahmslos eine Aktivierung hervorriefen und an dem verbleibenden Neuron Serotonin und DOI eine Hemmung und 8-OH-DPAT eine Aktivierung verursachten.

An einem (2,7 %) weiteren Neuron induzierten sowohl DOI als auch 8-OH-DPAT eine Erhöhung der Entladungsrate, wohingegen auf die Serotoningabe keine Antwort erfolgte. Die Applikation von DOI führte an einem (2,7 %) anderen striatalen Neuron zu einer signifikanten Verringerung der Impulsrate, Serotonin dahingegen zeigte einen gegensätzlichen Effekt am Neuron und auf die Gabe von 8-OH-DPAT reagierte die Zelle mit keiner Änderung der Entladungsrate.

Es lässt sich somit annehmen, dass in etwas weniger als einem Sechstel (16,2 %) dieser Population ( $n = 37$ ) aufgrund der beschriebenen Beobachtungen gleichzeitig mehrere Serotonin-Rezeptorsubtypen vorkamen, wobei sich dies nicht nur auf die 5-HT<sub>1A</sub>- bzw. 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptoren beschränkt zu haben schien.

#### **4.4. Überblick über die Lokalisation der untersuchten striatalen Neurone**

Es soll nun gezeigt werden, inwiefern die beschriebenen Populationen einer spezifischen Verteilung innerhalb des Striatum unterliegen.

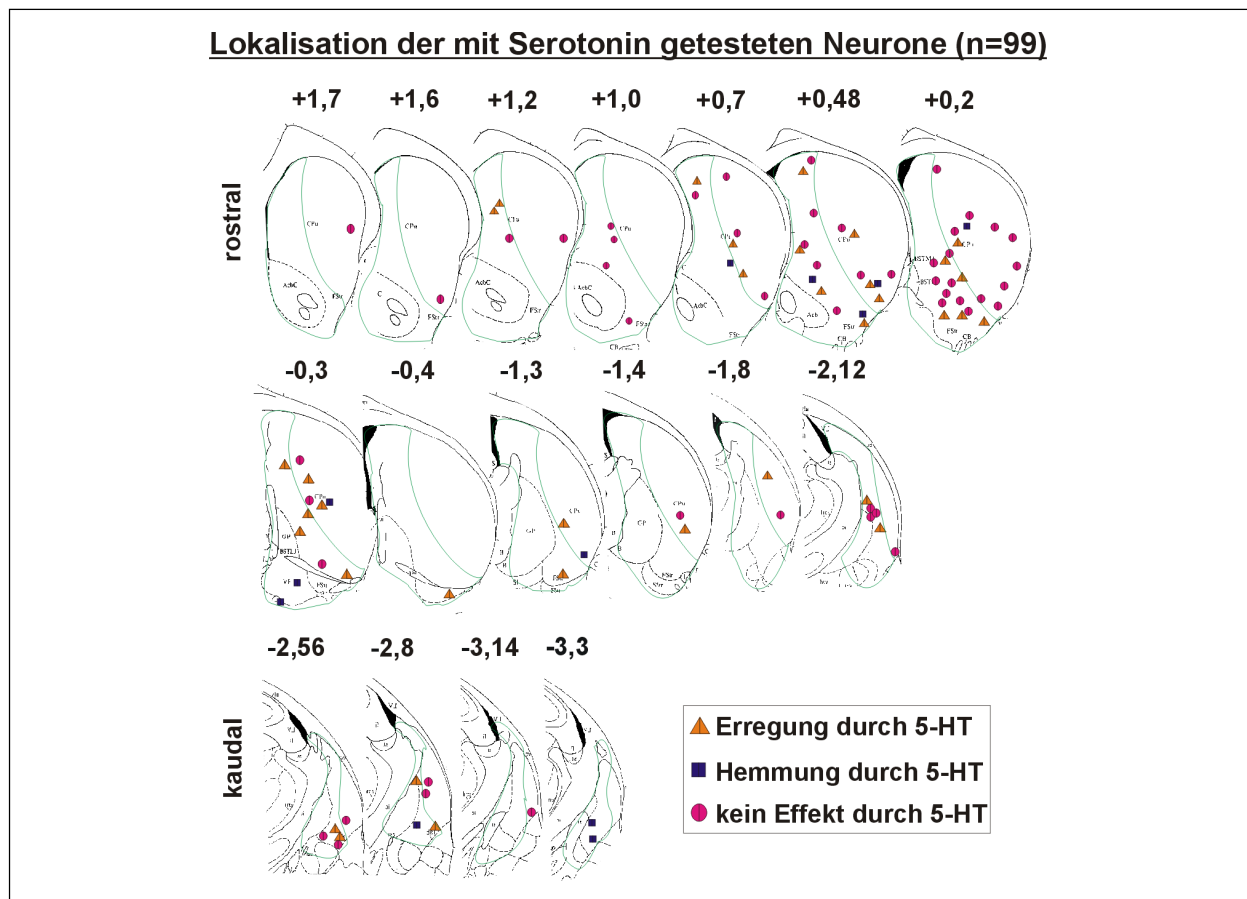
Als topographische Orientierungshilfe für die Bestimmung der Lokalisation der untersuchten Neurone wurden die kortikostriatalen Hauptafferentationsgebiete (ventromediales und dorsolaterales Striatum; siehe Abb. 1 in Abschnitt 1.1.2.) zugrunde gelegt. Außerdem wurde in der vorliegenden Studie eine Unterteilung des Striatum in einen rostralen, einen mittleren und einen kaudalen Anteil vorgenommen. Dies bezieht sich auf eine von mir durchgeführte frontale Unterteilung des Striatum, entsprechend der jeweiligen Entfernung vom Bregma. Da die vorliegenden Neurone innerhalb des Striatum in einem Gebiet von +1,7 mm vor bis -3,3 mm hinter dem Bregma gefunden werden konnten, wählte ich folgende Einteilung:

- a) rostrales Striatum (Caput) = +1,7 bis +0,2 mm vor dem Bregma
- b) mittleres Striatum (Corpus) = -0,3 bis -2,12 mm hinter dem Bregma
- c) kaudales Striatum (Cauda) = -2,3 bis -3,3 mm hinter dem Bregma

In den folgenden Abschnitten wird die Verteilung der untersuchten Neurone in Frontalschnitten durch das Striatum (aus Paxinos und Watson, 1986) gezeigt. Dabei wurden aus Gründen der Übersicht jeweils nur Teile der linken Hemisphären dargestellt. Wie oben angedeutet, erfolgte innerhalb der einzelnen Frontalschnitte eine Unterteilung in ein ventromediales (der in den folgenden Abbildungen grün umrandete Teil) und ein dorsolaterales Striatum. Der Übersicht halber wurden, entsprechend der Abbildung 1, ebenfalls das Pallidum sowie der Nucleus accumbens in die grüne Umrandung miteinbezogen, was jedoch nicht bedeutet, dass auch Neurone dieser Gebiete in die vorliegende Studie involviert wurden.

#### 4.4.1. Lokalisation der mit Serotonin untersuchten Neurone

Entsprechend der genannten Kriterien im vorangegangenen Abschnitt erfolgte eine Kartierung der 99 mit Serotonin untersuchten Neurone. Die Anordnung sowie die Art der Antwort jeder einzelnen Zelle können der Abb. 13 entnommen werden.



**Abb. 13:** Darstellung der 99 mit Serotonin getesteten Neurone entsprechend ihrer Lokalisation innerhalb des Striatum. Die Legende gibt den Antworttyp jedes einzelnen Neurons wieder. Die Ziffern über den Schnitten entsprechen der Entfernung (in mm) vor (+) bzw. hinter (-) dem Bregma. Der jeweils grün umrandete Teil entspricht dem ventromedialen Striatum.

Sowohl in der Abb. 13 als auch in der Tabelle 13, in der eine detaillierte Aufschlüsselung der 99 Neurone hinsichtlich ihrer jeweiligen Lage innerhalb des Striatum erfolgt, wird deutlich, dass ein besonders hoher Anteil der untersuchten Population (60,6 %) im rostralen Striatum gefunden wurde, wohingegen im kaudalen Striatum die wenigsten Neurone (13,1 %) lokalisiert waren.

Tabelle 13

n = 99	Rostraler Teil		Mittlerer Teil		Kaudaler Teil	
	ventromedial	dorsolateral	ventromedial	dorsolateral	ventromedial	dorsolateral
Aktivierung durch 5-HT	12	6	8	5	4	/
Hemmung durch 5-HT	3	2	2	2	3	/
Keine Antwort auf 5-HT	19	18	4	5	2	4
	$\Sigma$ 34	$\Sigma$ 26	$\Sigma$ 14	$\Sigma$ 12	$\Sigma$ 9	$\Sigma$ 4
	$\Sigma$ 60		$\Sigma$ 26		$\Sigma$ 13	

Die durch Serotonin aktivierten Zellen waren in allen drei Teilen des Striatum zu einem überwiegenden Teil im ventromedialen Bereich lokalisiert.

Die nichtresponsiven Neurone bevorzugten keine bestimmte Region innerhalb der drei Teilgebiete des Striatum.

Die Neurone, deren Entladungsraten durch den Einfluss von Serotonin vermindert worden waren, folgten einer relativ gleichmäßigen striatalen Verteilung.

Mit Hilfe des  $\chi^2$ -Testes sollte herausgefunden werden, ob sich die Verteilung der responsiven und der nichtresponsiven Neuronen jeweils innerhalb des rostralen, des mittleren bzw. des kaudalen Striatum signifikant voneinander unterscheidet. Jedoch zeigte sich dabei kein Verteilungsunterschied innerhalb der drei striatalen Teilgebiete.

#### 4.4.2. Lokalisation der mit 8-OH-DPAT getesteten Neurone

Die Neuronenpopulation, an welcher der Einfluss von 8-OH-DPAT geprüft worden war (n = 110), folgte einer Verteilung innerhalb des Striatum, welche der Abbildung 14 und der Tabelle 14 entnommen werden kann.

Außerdem zeigt die Tabelle 14 die 110 Neurone, eingeteilt nach ihrem jeweiligen Antwortverhalten auf die Gabe von 8-OH-DPAT.



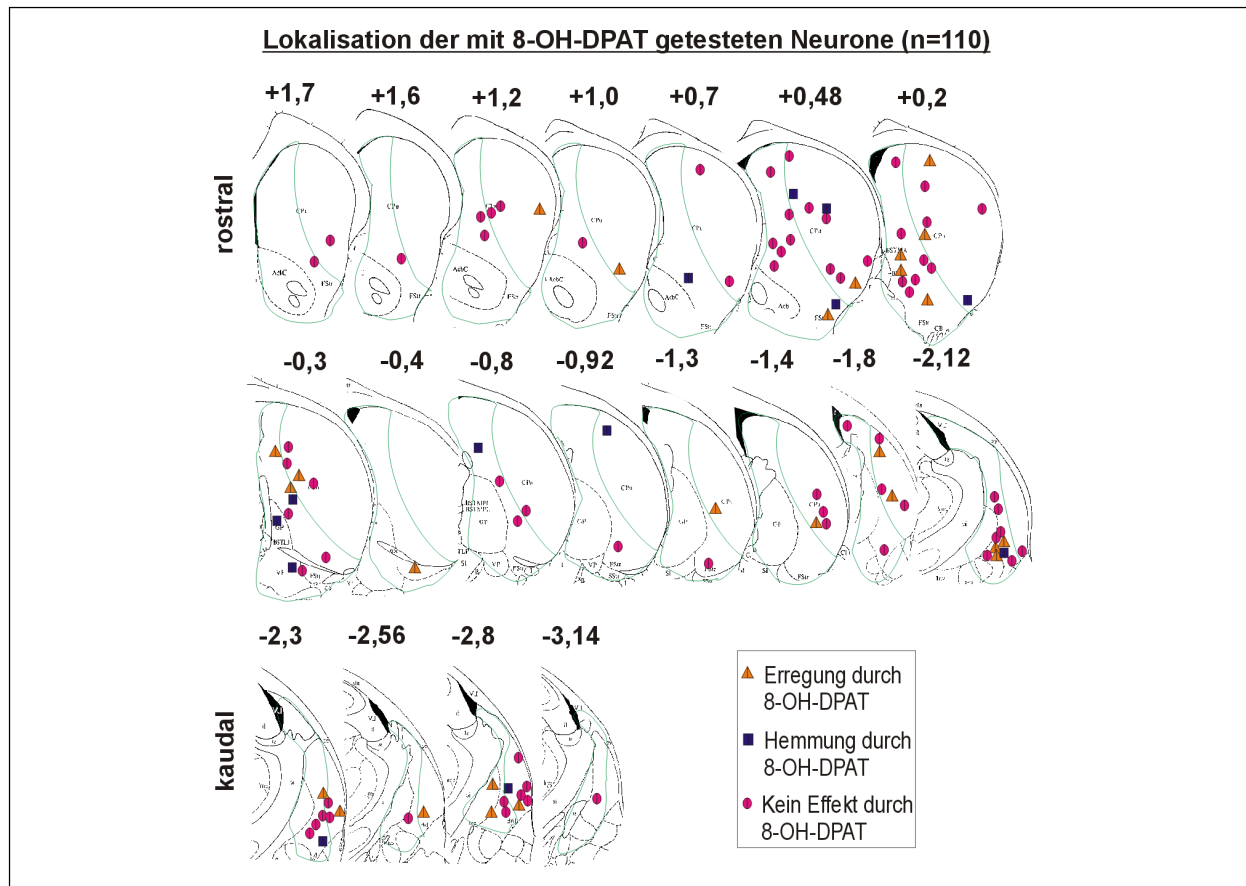
Tabelle 14

n = 110	Rostraler Teil		Mittlerer Teil		Kaudaler Teil	
	ventromedial	dorsolateral	ventromedial	dorsolateral	ventromedial	dorsolateral
Aktivierung durch DPAT	4	5	6	5	3	3
Hemmung durch DPAT	2	3	5	1	1	1
Keine Antwort auf DPAT	18	14	15	11	7	6
	$\Sigma$ 24	$\Sigma$ 22	$\Sigma$ 26	$\Sigma$ 17	$\Sigma$ 11	$\Sigma$ 10
	$\Sigma$ 46		$\Sigma$ 43		$\Sigma$ 21	

Zu ungefähr gleichen Anteilen verteilten sich 89 (80,9 %) der 110 Neurone auf das rostrale und das mittlere Striatum. Im kaudalen Teil waren nur 21 (19,1 %) der mit 8-OH-DPAT getesteten Neurone lokalisiert (siehe auch Abb. 14).

Man kann sehen, dass sowohl im rostralen und mittleren als auch im kaudalen Striatum die responsiven wie auch die nichtresponsiven Neurone relativ gleichmäßig im Striatum lokalisiert waren, ohne spezielle Bevorzugung des jeweiligen ventromedialen bzw. dorsolateralen Bereiches. In den Fällen, in denen der Chi<sup>2</sup>-Test angewandt werden konnte, ergab sich, wie bei der mit Serotonin getesteten Population auch, kein signifikanter Verteilungsunterschied der responsiven zu den nichtresponsiven Populationen in allen drei striatalen Teilregionen.

Anhand der Frontalschnitte durch das Striatum in der Abb. 14 kann man sich eine detaillierte Übersicht über die Lokalisation und die Art der Antwort jedes einzelnen der 110 mit 8-OH-DPAT untersuchten Neurone verschaffen.



**Abb. 14:** Darstellung der 110 mit 8-OH-DPAT getesteten Neurone entsprechend ihrer Lokalisation innerhalb des Striatum. Die Legende gibt den Antworttyp jedes einzelnen Neurons wieder. Die Ziffern über den Schnitten entsprechen der Entfernung (in mm) vor (+) bzw. hinter (-) dem Bregma. Der jeweils grün umrandete Teil entspricht dem ventromedialen Striatum.

#### 4.4.3. Lokalisation der mit DOI getesteten Neurone

Die Verteilung der 66 mit DOI untersuchten Neurone kann der Tabelle 15 entnommen werden. Im rostralen und im kaudalen Teil sind etwa gleich viele Neurone über den jeweils gesamten Bereich verteilt, nur im mittleren Striatum beschränkten sich die zwei antwortenden Zellen auf den dorsolateralen Bereich. Das gleiche Ergebnis erhält man, wenn die responsiven Neurone jedes der drei Teilbereiche in Relation zur gesamten dort untersuchten Neuronenanzahl gesetzt werden. Dabei zeigt sich, dass die meisten responsiven Neurone im kaudalen (29,4 %) sowie im rostralen Striatum (25,9 %), die wenigsten im medialen Striatum (9,1 %) lokalisiert waren.

Aufgrund der zu geringen Stichprobenumfänge in allen drei striatalen Teilgebieten konnte der Chi<sup>2</sup>-Test, zur Beurteilung eines potentiellen Verteilungsunterschiedes der responsiven und der nichtresponsiven Neurone, nicht durchgeführt und damit eine Bevorzugung einer bestimmten Region statistisch nicht gesichert bzw. ausgeschlossen werden.

**Tabelle 15**

<b>n = 66</b>	<b>Rostraler Teil</b>		<b>Mittlerer Teil</b>		<b>Kaudaler Teil</b>	
	<b>ventromedial</b>	<b>dorsolateral</b>	<b>ventromedial</b>	<b>dorsolateral</b>	<b>ventromedial</b>	<b>dorsolateral</b>
<b>Aktivierung durch DOI</b>	2	2	/	1	1	/
<b>Hemmung durch DOI</b>	2	1	/	1	2	2
<b>Keine Antwort auf DOI</b>	11	9	16	4	8	4
	<b>Σ 15</b>	<b>Σ 12</b>	<b>Σ 16</b>	<b>Σ 6</b>	<b>Σ 11</b>	<b>Σ 6</b>
	<b>Σ 27</b>		<b>Σ 22</b>		<b>Σ 17</b>	

Es kann deshalb nur vermutet werden, dass die 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptoren eher die rostralen und kaudalen Bereiche des Striatum bevorzugen.

#### 4.5. Darlegung der gemeinsamen Wirkung von CCK-8S und Serotonin auf die Neurone des Striatum

Im Kapitel 2 wurde angedeutet, dass Cholecystokinin dem Serotonin funktionell ähnliche aber auch entgegengesetzte Wirkungen in verschiedenen Regionen des ZNS besitzt und Interaktionen zwischen beiden Transmittern in verschiedenen Untersuchungen beschrieben wurden. Derzeit liegen noch keine Studien vor, die über CCK/5-HT-Interaktionen im Striatum berichten.

Cholecystokinin wurde deshalb in die vorliegende Untersuchung mit einbezogen, um zu klären, ob Interaktionen zwischen beiden Transmittern auch im Striatum vorliegen.

Zunächst wird dargelegt, welche Antworten CCK-8S bei alleiniger Applikation bei den Neuronen hervorrief.

Die mikroiontophoretische Verabreichung von CCK-8S erfolgte an einer Gesamtpopulation von 84 Neuronen. Dabei kam es an 22 (26,2 %) Neuronen zu einer signifikanten Erhöhung der Entladungsraten, 11 (13,1 %) Neurone wurden inhibiert und die verbleibenden 51 (60,7 %) Zellen zeigten keine Antwort auf die Gabe von Cholecystokinin.

Der Wilcoxon-Test für die gesamten 84 Neurone ergab sowohl in der frühen ( $p = 0,001$ ) als auch in der späten ( $p = 0,041$ ) Periode signifikante Ergebnisse (jeweils mit der Dominanz von Zellaktivierungen), wohingegen dies mit einem  $p$  von 0,994 für die Recovery-Perioden, die an 82 der mit CCK-8S geprüften Neuronen ermittelt werden konnten, nicht der Fall war.

An 71 dieser 84 Neurone war es zudem möglich, den Einfluss von Serotonin, sowohl allein als auch in Koapplikation mit CCK-8S, zu prüfen. Dabei ergab sich, dass sowohl bei alleiniger CCK-8S- bzw. Serotonin-Applikation als auch bei gemeinsamer Gabe beider Transmitter bei den responsiven Neuronen die Aktivierung gegenüber der Inhibition überwog. Jedoch konnte bei Koapplikation von CCK-8S und Serotonin festgestellt werden, dass die Gesamtresponsivität der 71 Neurone geringer war als bei jeweiliger alleiniger Gabe (siehe Tabelle 16).

**Tabelle 16**

n = 71	Aktivierung [n(%)]	Hemmung [n(%)]	Keine Antwort [n(%)]
<b>CCK-8S</b>	16 (22,5 %)	9 (12,7 %)	46 (64,8 %)
<b>Serotonin</b>	21 (29,6 %)	9 (12,7 %)	41 (57,7 %)
<b>CCK-8S + 5-HT</b>	16 (22,5 %)	5 (7,1 %)	50 (70,4 %)

Besonders der Vergleich der Responsivität bei separater Serotonin-Gabe mit der bei kombinierter Verabreichung mit CCK-8S macht diese Antwortverminderung im letzteren Fall deutlich.

Eine Betrachtung der jeweils durch CCK-8S bzw. Serotonin aktivierten und gehemmten Gruppen, sowohl bei alleiniger als auch bei Koapplikation, ergab die in den Tabellen 17 und 18 aufgeführten Irrtumswahrscheinlichkeiten  $p$  im Wilcoxon-Test für die verschiedenen Zeitperioden.

**Tabelle 17** (blau hervorgehoben = signifikante Irrtumswahrscheinlichkeiten  $p$ ; Die Pfeile entsprechen der vorherrschenden Antwortrichtung der Population:  $\uparrow$  = Zellaktivierung,  $\downarrow$  = Zellhemmung.)

	Erregte CCK-8S-Gruppe (n = 16)		Erregte 5-HT-Gruppe (n = 21)	
	CCK-8S allein (p)	CCK-8S+5-HT (p)	Serotonin allein (p)	CCK-8S+5-HT (p)
Frühe Periode	<b>0,001 <math>\uparrow</math></b>	<b>0,002 <math>\uparrow</math></b>	<b>0,008 <math>\uparrow</math></b>	0,079
Späte Periode	<b>0,001 <math>\uparrow</math></b>	0,155	<b>0,001 <math>\uparrow</math></b>	0,083
Recovery-Periode	<b>0,017 <math>\uparrow</math></b>	0,081	<b>0,006 <math>\uparrow</math></b>	0,781

**Tabelle 18** (blau hervorgehoben = signifikante Irrtumswahrscheinlichkeiten  $p$ ; Die Pfeile entsprechen der vorherrschenden Antwortrichtung der Population:  $\uparrow$  = Zellaktivierung,  $\downarrow$  = Zellhemmung.)

	Gehemmte CCK-8S-Gruppe (n = 9)		Gehemmte 5-HT-Gruppe (n = 9)	
	CCK-8S allein (p)	CCK-8S+5-HT (p)	Serotonin allein (p)	CCK-8S+5-HT (p)
Frühe Periode	0,260	0,594	0,110	<b>0,021 <math>\uparrow</math></b>
Späte Periode	<b>0,008 <math>\downarrow</math></b>	0,483	<b>0,008 <math>\downarrow</math></b>	0,286
Recovery-Periode	<b>0,015 <math>\downarrow</math></b>	0,674	0,066	0,092

Wie man den beiden Tabellen entnehmen kann, wurden während der Koapplikation von CCK-8S und Serotonin, im Vergleich zur separaten Gabe der aufgeführten Transmitter, signifikante Änderungen der Entladungsraten in den relevanten Zeitperioden kaum erreicht. Die gemeinsame Applikation von CCK-8S und Serotonin ergab signifikante Änderungen der Impulsraten (mit dem Vorherrschen von Zellaktivierungen) nur in den jeweils frühen Perioden der ursprünglich durch CCK-8S erregten bzw. durch Serotonin gehemmten Gruppe.

Das bedeutet, dass die durch die jeweilige separate Gabe von Serotonin bzw. CCK-8S deutlichen Änderungen der neuronalen Antwortraten durch kombinierte Verabreichung der beiden Substanzen vermindert worden waren.

Ein Vergleich der Responsivität auf die alleinige Gabe von CCK-8S bzw. Serotonin mit der Responsivität auf ihre kombinierte Applikation ergab im  $\chi^2$ -Test signifikante Ergebnisse, was im vorliegenden Fall bedeutet, dass die Anzahl der neuronalen Antwortraten davon abhängt, ob die beiden genannten Transmitter allein oder in Kombination verabreicht werden. Die betrachteten Parameter sowie die Ergebnisse des  $\chi^2$ -Testes (p) sind nachfolgend aufgeführt (Tabelle 19).

**Tabelle 19**

<b><math>\chi^2</math>-Test n = 71</b>	<b>Effekt bei separater CCK-8S-Gabe</b>	<b>Kein Effekt bei separater CCK-8S- Gabe</b>	<b>Effekt bei separater 5-HT-Gabe</b>	<b>Kein Effekt bei separater 5-HT- Gabe</b>
<b>Effekt bei gemeinsamer Gabe</b>	12	9	17	4
<b>Kein Effekt bei gemeinsamer Gabe</b>	13	37	13	37
	<b>p = 0,012</b>		<b>p &lt; 0,0001</b>	

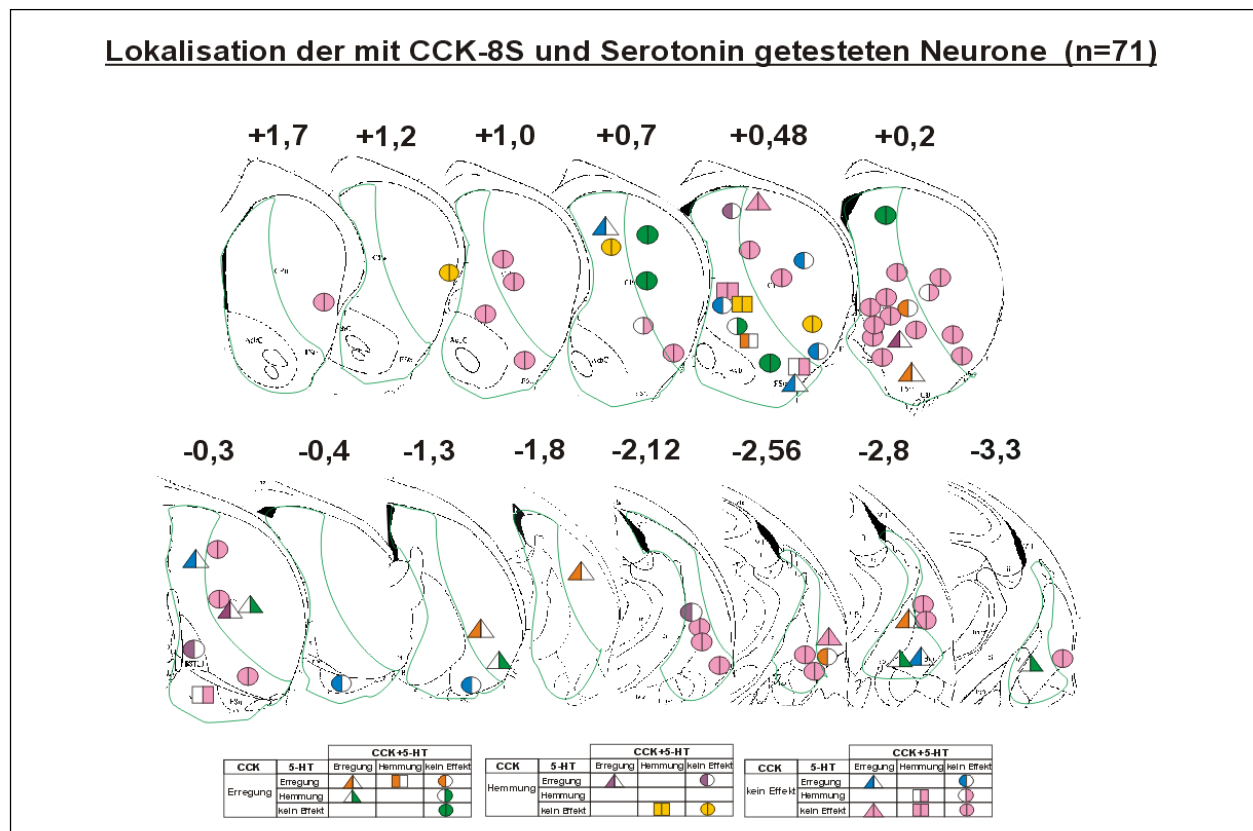
Wie im Abschnitt 4.2. angedeutet, scheint CCK-8S gegenüber Serotonin eine Rolle als Modulator zu besitzen. Dies wird in den Abbildungen 4 und 5 deutlich, in denen jeweils bei Koapplikation der Einfluss von Cholecystokinin dominierte. Selbst die alleinige starke Serotonin-Antwort in der Abbildung 4 wurde durch CCK-8S, welches selbst keinen Effekt induzierte, unterdrückt.

Betrachtet man jedoch alle 71 Neurone, so konnte auch für Serotonin eine modulatorische Fähigkeit gegenüber CCK-8S festgestellt werden. Auffällig war, dass in der gehemmten CCK-8S- bzw. Serotonin-Gruppe bei Koapplikation der Einfluss des jeweils anderen Transmitters in vielen Fällen überwog, d.h. es kam entweder zu Aktivierungen oder zu weniger starken Hemmungen.

#### 4.5.1. Lokalisation der mit CCK-8S und Serotonin geprüften Neurone

Ähnlich wie in einem Teil der vorangegangenen Abschnitte auch, soll nun kurz darauf eingegangen werden, wie sich die 71 Neurone, die sowohl mit CCK-8S als auch mit Serotonin getestet wurden, innerhalb des Striatum verteilen.

In der Abbildung 15 kann man sich einen Überblick über die Lokalisation der Zellen verschaffen. Man kann gleichzeitig sehen, ob und wie die untersuchten Neurone auf die alleinige und kombinierte Applikation von CCK-8S bzw. Serotonin reagierten.



**Abb.15:** Darstellung der 71 mit CCK-8S und Serotonin getesteten Neurone entsprechend ihrer Lokalisation innerhalb des Striatum. Die Legende gibt den Antworttyp jedes einzelnen Neurons wieder. Die Ziffern über den Schnitten entsprechen der Entfernung (in mm) vor (+) bzw. hinter (-) dem Bregma. Das rostrale Striatum reicht bis + 0,2mm vor dem Bregma und das kaudale Striatum beginnt hier bei - 2,56 mm. Der jeweils grün umrandete Teil entspricht dem ventromedialen Striatum.

Wie man der Abbildung entnehmen kann, waren die meisten Neurone ( $n = 43$ ) im rostralen Teil des Striatum und die wenigsten ( $n = 11$ ) im kaudalen Striatum lokalisiert. Dabei lagen 59,2 % ( $n = 42$ ) aller untersuchten Zellen im ventromedialen Bereich des gesamten Striatum. Von den sechs Zellen, deren Antworten auf die separate CCK-8S- und Serotonin-Gabe bei gemeinsamer Verabreichung aufgehoben wurden, waren fünf im ventromedialen Bereich des rostralen und mittleren Striatum und nur eine im dorsolateralen Bereich des kaudalen Striatum lokalisiert. Alle vier Neurone, die sowohl auf die separate als auch auf die kombinierte Gabe von CCK-8S bzw. Serotonin mit einer Steigerung der Entladungsrate reagierten, waren über das gesamte Striatum verteilt, ohne Bevorzugung eines bestimmten Bereiches. Das gleiche gilt für die drei Neurone, die nur auf eine Koapplikation der beiden Substanzen reagierten.

**Tabelle 20**

		<b>CCK-8S allein</b>		<b>5-HT allein</b>		<b>CCK-8S + 5-HT</b>		<b>n</b>
		<b>responsiv</b>	<b>nicht responsiv</b>	<b>responsiv</b>	<b>nicht responsiv</b>	<b>responsiv</b>	<b>nicht responsiv</b>	
<b>Rostraler Teil</b>	<b>ventromedial</b>	11	15	11	15	8	18	<b>26</b>
	<b>dorsolateral</b>	4	13	3	14	1	16	<b>17</b>
<b>Mittlerer Teil</b>	<b>ventromedial</b>	2	8	6	4	2	8	<b>10</b>
	<b>dorsolateral</b>	5	2	5	2	5	2	<b>7</b>
<b>Kaudaler Teil</b>	<b>ventromedial</b>	3	3	4	2	4	2	<b>6</b>
	<b>dorsolateral</b>	1	4	1	4	1	4	<b>5</b>
<b>Summe</b>		<b>26</b>	<b>45</b>	<b>30</b>	<b>41</b>	<b>21</b>	<b>50</b>	

In der Tabelle 20 erfolgt eine detaillierte Auflistung der striatalen Verteilung der 71 mit Serotonin und CCK-8S untersuchten Neurone. Mit Hilfe des  $\chi^2$ -Testes, der jedoch nicht in allen Fällen angewandt werden konnte, sollten für die responsiven bzw. nichtresponsiven Neurone potentielle striatale Präferenzgebiete bestätigt bzw. ausgeschlossen werden. Dabei ergaben sich jedoch für keine der in der Tabelle 20 aufgeführten Subpopulation spezifische striatale Verteilungsmuster.

Es kann somit angenommen werden, dass sich die hier untersuchten Neurone diffus über das gesamte Striatum verteilten.



## **5. Diskussion**

### **5.1. Die Effekte von Serotonin und daran beteiligte Rezeptorsubtypen**

Anhand der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit konnte festgestellt werden, dass die Effekte des Monoamins Serotonin größtenteils in einer Aktivierung der striatalen Neurone bestanden. Diese Tatsache stimmt überein mit Beobachtungen in schon vorliegenden Arbeiten. Stefani et al. (1990), z.B., berichteten von einer Erhöhung der Entladungsraten neostriataler medium-spiny Neurone, hervorgerufen durch eine Verminderung spannungsabhängiger Kaliumströme. Im Gegensatz dazu führte mikroiontophoretisch appliziertes Serotonin im Striatum des Meerschweinchens zu einer Inhibierung der Neurone, genauer gesagt, zur Hemmung einer Quisqualat-induzierten Aktivität (El Mansari et al., 1997).

Auch in anderen zentralnervösen Regionen konnten differente Serotonin-Wirkungen festgestellt werden. So zeigten sich, z.B., größtenteils erregende Serotonin-Effekte an Neuronen des Nucleus tractus solitarius der Ratte (Wang et al., 1997).

In Slices des ventromedialen Hypothalamus dahingegen reduzierte Serotonin die Entladungsraten der Neurone (Heidel und Davidowa, 1998). An zerebellären Purkinje-Zellen führte die iontophoretische Gabe von Serotonin ebenfalls zu einem Überwiegen der Suppression dieser Neurone (Strahlendorf et al., 1984). Im subfornikalen Organ der Ratte konnten sowohl Serotonin-induzierte Erregungen als auch Hemmungen der dortigen Neurone beobachtet werden (Scrogin et al., 1998).

Da derzeit bekannt ist, dass Serotonin seine Wirkungen über sieben verschiedene Rezeptorklassen vermitteln kann, die ihrerseits wiederum in vierzehn Rezeptorsubtypen unterteilt werden können (Hoyer und Martin, 1997), verwundern die unterschiedlichen Antwortrichtungen in den erwähnten Gehirnarealen nur wenig.

In der vorliegenden Studie sollte Aufschluss darüber erbracht werden, ob und wie der 5-HT<sub>1A</sub>- bzw. die 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptorsubtypen an den serotoninergeren Wirkungen innerhalb des Striatum beteiligt sind.

Obwohl die Existenz von 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorbindungsstellen an Neuronen des Striatum größtenteils verneint oder zumindest angezweifelt wurde (Dupuis et al., 1998; Julius, 1991; Kia et al., 1996; Palacios et al., 1990; Pazos und Palacios, 1985), sprechen die Ergebnisse in der vorliegenden Studie für ein Vorkommen von 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren in dieser Gehirnregion. Dies lässt sich zum einen in der Tatsache begründen, dass in mehr als einem Drittel der mit dem

5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT geprüften Neuronenpopulation relevante Aktivitätsänderungen auftraten und zum anderen die sowohl auf die 8-OH-DPAT- als auch auf die Serotonin-Gabe responsiven Neurone in 80 % der Fälle gleichartige Zellantworten aufwiesen. Außerdem zeigte sich, besonders in den späten Perioden, eine Korrelation der Effekte der 53 sowohl mit Serotonin als auch mit 8-OH-DPAT getesteten Neurone. Von 8-OH-DPAT wurde berichtet, dass es neben den 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren auch an die 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptoren bindet. Jedoch ist die Affinität von 8-OH-DPAT zu den letzteren Rezeptoren 10- bis 50-mal schwächer als zu den 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren (Hamon, 1997; Ruat et al., 1993b). Auch konnte bisher keine 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptor-mRNA innerhalb des Striatum nachgewiesen werden (Branchek und Zgombick, 1997; Mengod et al., 1997).

Auf der anderen Seite konnten die Effekte von zwanzig 8-OH-DPAT-responsiven Neuronen in siebzehn Fällen (85 %) durch WAY 100635 und/oder S-UH 301 blockiert werden. Da diese beiden Antagonisten 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-affine Eigenschaften aufweisen (Forster et al., 1995; Fletcher et al., 1993), ist eine Blockierung anderer Serotoninrezeptoren, insbesondere des 5-HT<sub>7</sub>-Rezeptorsubtypen, weitestgehend ausgeschlossen.

Es lässt sich schlussfolgern, dass tatsächlich 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren innerhalb des Striatum der Ratte lokalisiert sind.

Dies entspricht auch den Hinweisen von Johnson et al. (1993), die als Antwort auf die Gabe von 8-OH-DPAT in striatalen Synaptosomen der Ratte eine Supprimierung der Tyrosin-Hydroxylierung beschrieben und damit eine Lokalisation von 5-HT<sub>1A</sub>-Heterorezeptoren an striatalen dopaminergen Nervenendigungen annahmen.

Die 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-vermittelten und meist als inhibitorisch beschriebenen Effekte (Bijak und Misgeld, 1997; Davidowa et al., 1998; El Mansari und Blier, 1997; Schmitz et al., 1995; Scrogin et al., 1998; Stein et al., 2000) scheinen ihre Ursache zum einen in einer Stimulation cAMP-abhängiger pertussistoxinsensitiver G<sub>i/o</sub>-Proteine mit nachfolgender Öffnung von Kalium-Kanälen und zum anderen in einer direkten Ankoppelung an die Kalium-Kanäle und damit einer Hyperpolarisation der Zelle zu haben (Aghajanian et al., 1990; Hartig, 1997; Jeong et al., 2001). Julius (1991) jedoch berichtete zudem von einer, wenn auch nur leichten, Hydrolyse von Phosphatidylinositol, mit der Implikation der Beteiligung eines IP<sub>3</sub>-vermittelten Einflusses auf die Ionenkanäle.

In dieser Studie führte 8-OH-DPAT überwiegend zu exzitatorischen Antworten striataler Neurone. Auch Zippel et al. (1999) berichteten von 8-OH-DPAT-induzierten Zellaktivierungen an Neuronen des lateralen Hypothalamus. Der von Julius (1991) genannte Signalübertragungs-Mechanismus könnte für die in der vorliegenden Arbeit beobachteten Zellaktivierungen

ursächlich gewesen sein, d.h., die Bindung an 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren hatte über den second messenger IP<sub>3</sub> eine Öffnung von Ca<sup>2+</sup>-Kanälen und damit eine Zelldepolarisation zur Folge. Nimmt man für den 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren den klassischen Transmissionsvorgang über die G<sub>i/o</sub>-Proteine und damit eine Hyperpolarisation des Neurons an, so wäre auch ein indirektes Einwirken benachbarter Interneurone auf die momentan untersuchte Nervenzelle denkbar. Das würde bedeuten, dass die Stimulation von 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren an hemmenden Interneuronen nachfolgend zu einer Disinhibition des mit ihm kommunizierenden Folgeneurons führt. Da die medium-spiny Neurone, mit GABA als Haupttransmitter, nicht nur in Gebiete außerhalb des Striatum projizieren, sondern auch lokal über zahlreiche Kollaterale mit anderen striatalen Neuronen kommunizieren, ist eine indirekte Wirkung von 8-OH-DPAT an den responsiven Neuronen in dieser Studie in Erwägung zu ziehen. Auch in einer anderen Studie, in welcher die serotoninerge Wirkung an hilären Neuronen des Gyrus dentatus untersucht wurde, fand man heraus, dass die Gabe von 8-OH-DPAT die Aktivität inhibitorischer GABAerger Neurone unterdrückte (Bijak und Misgeld, 1997) und damit vermutlich eine Disinhibition benachbarter Neurone herbeigeführt wurde. Ähnliches wurde an amygdaloiden Neuronen beobachtet, die meist durch 8-OH-DPAT gehemmt wurden. Aktivierende 8-OH-DPAT-Effekte wurden jedoch durch den GABA-Antagonisten Bicucullin aufgehoben (Stein et al., 2000).

Becquet et al. (1990) wiesen im Nucleus caudatus der Ratte eine Glutamat-induzierte verminderte Serotonin-Freisetzung aus terminalen Endigungen der Raphe-Kerne nach und sprachen in diesem Zusammenhang ebenfalls von einer Mitbeteiligung von GABAergen Interneuronen innerhalb des Striatum, die einen phasischen Einfluss auf die Serotoninausschüttung zu haben schienen.

In der vorliegenden Studie konnte der an einem Neuron getestete GABA-Antagonist Bicucullin (im Ergebnisteil nicht beschrieben) die ursprünglich aktivierende Wirkung des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten 8-OH-DPAT auf das entsprechende Neuron aufheben, d.h. die gemeinsame Gabe beider Substanzen führte zu keinem Zelleffekt mehr. Dies unterstützt die genannte Hypothese auch einer indirekten und damit aktivierenden Wirkung von 8-OH-DPAT auf die hier untersuchten Neurone des Striatum. Da schon in vorangegangenen mikroiontophoretischen Studien der Agonist 8-OH-DPAT zur Anwendung kam und hier, wie schon genannt, suppressive Einflüsse auf die Neurone hatte (Davidowa et al., 1998), scheinen methodische Fehler nicht ursächlich für die beobachteten 8-OH-DPAT-induzierten Exzitationen gewesen zu sein.

Trotz alledem konnten auch Inhibitionen durch 8-OH-DPAT beobachtet werden und vermutlich sind daran die schon genannten G<sub>i/o</sub>-Proteine beteiligt. Im Hippokampus der Ratte konnte außerdem nachgewiesen werden, dass 8-OH-DPAT, vermutlich über eine herabgesetzte

präsynaptische Kalzium-Aufnahme, die exzitatorische Transmission verminderte (Schmitz et al., 1995). Untersuchungen an neokortikalen Pyramidalzellen und an cholinergen Neuronen des Nucleus basalis offenbarten, dass 8-OH-DPAT spannungsabhängig die Ströme verschiedener Subtypen des „high-voltage-activated“ Kalzium-Kanals reduzierte und diese Verminderung, höchstwahrscheinlich über  $G_{i/o}$ -Proteine vermittelt, durch Aktionspotenzial-ähnliche Depolarisationen abgeschwächt werden konnte (Foehring, 1996; Williams et al., 1998).

Somit kann angenommen werden, dass der Grad der 8-OH-DPAT-induzierten Inhibition abhängig sein könnte vom aktuellen Membranzustand des Neurons. Diesen Aspekt beschrieben schon Wilson und Kawaguchi (1996) in ihrer Arbeit. Sie führten an medium-spiny Neuronen in vivo intrazelluläre Potentialableitungen durch und konnten dabei feststellen, dass der momentane Zustand der Zellmembranen zwischen zwei Zuständen wechselte. Es konnte der stärker polarisierte „down-state“ mit Spannungen zwischen  $-61$  bis  $-94$  mV vom depolarisierten „up-state“ mit Werten von  $-71$  bis  $-40$  mV unterschieden werden. Dabei wurde nachgewiesen, dass unterschiedliche Kalium-Leitfähigkeiten für die Konstanthaltung eines der beiden Membranzustände, die auch von exzitatorischen kortikalen Einflüssen abhingen, verantwortlich waren und sie bei einer zu starken Zellexzitation eine gewisse Schutzfunktion für die Zelle darzustellen schienen.

Bei zwei Dritteln der Neurone in der vorliegenden Studie kann, bezugnehmend auf die in der Einleitung genannten Schilderungen von Wilson (1993), aufgrund ihrer geringen Entladungsraten ( $\leq 2$  Imp./s) angenommen werden, dass sie den medium-spiny Neuronen angehörten. Da das verbleibende Drittel Spontanaktivitäten von mehr als 2 Imp./s aufwies, könnte es sich, den Beschreibungen von Kawaguchi et al. (1995) zufolge, bei dieser Population um die großen cholinergen Interneurone handeln. Prozentual umfassen sie zwar nur ca. 2 % der Gesamtpopulation (Heimer et al., 1995), aber aufgrund ihrer Größe und der hohen Entladungsrate sind ihre Potenziale mit extrazellulären elektrophysiologischen Untersuchungsmethoden besser zu erfassen. Durch Serotonin wurde diese Population besonders gehemmt. Unter diesen Bedingungen würde weniger Azetylcholin freigesetzt, das normalerweise das Ruhepotenzial der Projektionsneurone durch Erhöhung einer Kalium-Leitfähigkeit stabilisieren soll. Ein solcher Mechanismus könnte auch zu einer leichteren Aktivierung der Projektionsneurone beitragen.

Eine umgekehrte Korrelation zwischen der Höhe der jeweiligen Ausgangsentladungsrate und der zellulären Antwortbereitschaft beschrieben Strahlendorf et al. (1984). Mit ihren Untersuchungen an zerebellären Purkinje-Zellen stellten sie fest, dass bei den nach mikroiontophoretischer Applikation von Serotonin erregten Neuronen die Bereitschaft zur Exzitation mit wachsender

Grundaktivität fiel, wohingegen die gehemmten Neurone eher höhere Ausgangsentladungsraten aufwiesen. Des Weiteren konnten sie nachweisen, dass die Quantität der exzitatorischen Antworten ebenfalls mit der Höhe der Spontanentladungsraten abnahm. Dass die Neurone in der vorliegenden Studie nicht dieses soeben geschilderte Antwortverhalten aufwiesen, geht aus dem Ergebnisteil hervor.

Betrachtet man die jeweils absolute Anzahl, so wies der größere Teil der sowohl 8-OH-DPAT- als auch DOI-responsiven Neurone zwar auch geringe Ruheentladungsraten ( $\leq 2$  Imp./s) auf, jedoch ergab sich statistisch kein Anhalt für eine unterschiedliche Responsivität der langsam bzw. schnell entladenden Zellen.

Damit zu starke glutamatinduzierte Zellexzitationen, bei denen ein übermäßiger Kalziumeinstrom, zu zytotoxischen Reaktionen an den Neuronen führen würde, unterdrückt werden, müssen gewisse Schutzmechanismen existieren. Wie schon an anderer Stelle angedeutet, stellten hierbei Wilson und Kawaguchi (1996) die Vermutung an, dass in diesem Zusammenhang den Kalium-Kanälen mit ihren wechselnden Ionendurchlässigkeiten die Rolle als Membranschutz zugesprochen werden könnte. In diesem Zusammenhang wurde auch davon berichtet, dass die relativ lange Refraktärphase der schnellen dornenfreien („aspiny“) Neurone zu hohe Entladungsraten, welche mit den oben genannten zytotoxischen Mechanismen einhergehen könnten, verhindert (Wilson, 1993).

Mehrere Autoren berichten in ihren Arbeiten von einem im Vergleich zu den 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren relativ zahlreichen Vorkommen von 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptorsubtypen innerhalb des Striatum (Palacios et al., 1990; Pazos et al., 1985; Waeber und Palacios, 1994; Ward und Dorsa, 1996; Wolf und Schutz, 1997). Wider Erwarten induzierte der 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptoragonist DOI in dieser Arbeit nur an insgesamt 21,2 % der Fälle eine Neuronenantwort und lag damit sogar weit unterhalb der durch 8-OH-DPAT erreichten Gesamtresponsivität. Auch wurde in den späten Phasen der 42 mit DOI und Serotonin getesteten Neuronengruppe, im Gegensatz zur mit Serotonin und 8-OH-DPAT getesteten Population, keine signifikante Korrelation der jeweiligen Effekte beobachtet, was dafür spricht, dass die späten Serotonin-Effekte nicht oder zumindest nur zu einem geringen Anteil 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptor-vermittelt waren. Mögliche Ursachen für die geringe Responsivität der Neurone auf die DOI-Applikation könnten zum einen darin gelegen haben, dass die hier untersuchten Neurone außerhalb der bevorzugten 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptorlokalisationsgebiete lagen (siehe dazu den folgenden Abschnitt 5.2.). Zum anderen ist überlegenswert, ob DOI durch seine Affinität zu zwei 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptorsubtypen, nämlich dem 5-HT<sub>2A</sub>- und dem 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptoren, am selben Neuron gleichzeitig gegenläufige Reaktionen hervorrief und dies in summa zu einer

Aufhebung eines eindeutigen Zelleffektes führte. Hinweise auf zum Teil entgegengesetzte Einflüsse des 5-HT<sub>2A</sub>- und des 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptoren innerhalb des Zentralnervensystems wurden in früheren Publikationen gegeben. So konnte, z.B., nachgewiesen werden, dass eine Aktivierung der 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptoren zu einer Erhöhung der Dopamin- und Noradrenalin-Spiegel führte, wohingegen die Stimulation der 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptoren genau das Gegenteil bewirkte (Gobert und Millan, 1999). Maurel et al. (1999) konnten in ihren Versuchen an Ratten zeigen, dass die beiden 5-HT-Rezeptorsubtypen unterschiedlich stark das Konsumverhalten der Tiere beeinflussten. So reduzierte DOI, über 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptoren, ausschließlich die orale Ethanolzufuhr, hatte also einen spezifischen und selektiven antialkoholischen Effekt, wohingegen der 5-HT<sub>2C/1B</sub>-Rezeptoragonist mCPP an einer generellen Verminderung des Konsumverhaltens, also auch der Nahrungs- und Wasseraufnahme, beteiligt war.

Geht man davon aus, dass nicht in allen hier untersuchten Fällen beide Rezeptorsubtypen am selben Neuron existieren, so erklärt sich das Auftreten von sowohl Aktivierungen als auch Hemmungen in der mit DOI getesteten Population. Möglicherweise wurden über einen von den beiden 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren eher Hyperpolarisationen und über den anderen vermehrt Depolarisationen induziert. Diese These wird unterstützt von einer Untersuchung in den Basalganglien, die zeigte, dass die dortige Aktivierung der Phospholipase C hauptsächlich 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptor-vermittelt war, wohingegen der 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptor dahingehend nur eine untergeordnete Rolle einnahm (Wolf und Schutz, 1997), was bedeuten würde, dass Zellaktivierungen eher über 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptoren gesteuert werden.

Die beiden zur Gruppe der metabotropen 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren gehörenden Subtypen scheinen ihre Wirkungen hauptsächlich über G<sub>q/11</sub>-Proteine zu vermitteln, die, über die Stimulation der Phospholipase C, eine Hydrolyse von Phosphatidylinositol zu den second messengern IP<sub>3</sub> und DAG bewirken, wodurch, besonders über IP<sub>3</sub>, intrazellulär gespeichertes Kalzium freigesetzt und nachfolgend über die Verminderung der Kalium-Leitfähigkeiten eine Depolarisation bewirkt wird (Aghajanian et al., 1990; Blank et al., 1996; Hoyer und Martin, 1997; Julius, 1991). Eventuell waren zusätzlich auch andere, noch zu ergründende Übertragungsmechanismen an der Auslösung der DOI-Effekte beteiligt. Trotz der noch fehlenden Hinweise zur Existenz ionotroper 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren im Zentralnervensystem, ist zu überlegen, ob über die 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren direkt schnelle Ionenkanäle geöffnet werden, allerdings müsste in diesem Fall eine durch DOI hervorgerufene Wirkung schon während der Applikation auftreten. Jedoch zeigten die meisten Neurone erst nach einer längeren Latenzzeit eine Änderung der Entladungsraten. Diese zeitliche Verzögerung des Eintretens eines Zelleffektes nach der DOI-Gabe, wie dies aber auch nach

Applikation von Serotonin und 8-OH-DPAT zu beobachten war, ist zurückzuführen auf die Beteiligung der G-Proteine bzw. des damit verbundenen second-messenger-Systems.

Im präfrontalen Kortex der Ratte rief DOI eine Erhöhung des extrazellulären GABA-Spiegels hervor, und weitere Untersuchungen dazu erbrachten Hinweise auf eine Beteiligung GABAerger Interneurone an diesem Prozess (Abi-Saab et al., 1999). Im Striatum der Ratte vermittelten 5-HT<sub>2</sub>-Heterorezeptoren an dopaminergen Nervenendigungen eine Hemmung der Dopaminfreisetzung (Ng et al., 1999). Diese beiden genannten Beobachtungen zeigen zum einen, dass DOI bzw. Serotonin über 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren modulatorische Fähigkeiten besitzen, und zum anderen könnten über diese indirekten Wirkungsweisen die in der vorliegenden Studie beobachteten Inhibitionen bewirkt sein.

Die in dieser Studie beobachteten Zellexzitationen könnten zum Teil mit dem von Blank et al. (1996) beschriebenen Mechanismus erklärt werden. Sie wiesen nämlich nach, dass durch eine Aktivierung der 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren ein vorübergehender NMDA-Rezeptor-vermittelter Ionenstrom verstärkt wurde. Da NMDA ein Glutamatrezeptoragonist ist, könnten einige DOI-induzierte Neuronenaktivierungen innerhalb des Striatum auf diesem Wege entstanden sein.

Von einer direkten Suppression der Quisqualat-aktivierten striatalen Neurone durch Serotonin, die von DOI nachgeahmt wurde, berichteten El Mansari und Blier (1997). Allerdings hatten sie Schwierigkeiten, die Effekte durch verschiedene spezifische 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptorantagonisten zu blockieren. Wang et al. (1997) dahingegen beobachteten einen exzitatorischen Serotonin- bzw. DOI-Effekt an Neuronen des Nucleus tractus solitarius der Ratte. Wie auch immer, es ist trotzdem unklar, warum immerhin fast 80 % der DOI-Population unbeeinflusst blieb. Außer dem oben schon genannten Grund, könnte die Höhe der Ausgangsaktivität dabei eine Ursache für die geringen Antwortraten gewesen sein. Alle DOI-responsiven Neurone hatten Entladungsraten zwischen  $\leq 1$  und  $\leq 4$  Imp./s und gehörten damit zu den langsamen bis mittelschnellen Zellen. Man könnte daraus schlussfolgern, dass die Ansprechbarkeit der Neurone mit höheren Impulsraten weit unterhalb der von langsamen Zellen liegt. Allerdings spricht gegen diese Annahme, dass eine Anzahl von 33 Neuronen, also der Hälfte der mit DOI getesteten Gesamtpopulation, mit einer jeweiligen Grundaktivität von  $\leq 1$  Imp./s mit keiner Änderung der Entladungsrate reagierte. Es ist weitaus naheliegender, dass die hier untersuchten nichtresponsiven Neurone einfach keinen 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptor-Besatz aufwiesen, weil sie außerhalb der Präferenzgebiete der 5-HT<sub>2A</sub>- bzw. 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptoren lagen. Eine weitere Möglichkeit für die fehlenden Neuronenantworten könnte darin bestanden haben, dass benachbarte GABAerge Interneurone die eigentliche DOI-Wirkung, und auch die der anderen Testsubstanzen, am untersuchten Neuron unterdrückten. Es muss allerdings auch in Betracht gezogen werden, dass

die Höhe der Konzentrationen und/oder der Austreibstromstärken der hier genutzten Substanzen einen Einfluss auf die Responsivität nahm.

An der Auslösung der in dieser Studie beobachteten serotoninerger Wirkungen könnten natürlich, neben den hier beschriebenen, auch noch andere 5-HT-Rezeptorsubtypen beteiligt gewesen sein. Bockaert et al. (1997) beschrieben ein dichtes Vorkommen von 5-HT<sub>4</sub>-Rezeptoren innerhalb des Caudato-Putamen. Da dieser Rezeptorsubtyp seine Wirkungsweise über G<sub>s</sub>-Proteine mit einer positiven cAMP-Stimulation vermittelt, könnten Erregungen durch Serotonin auf diesem Wege entstanden sein. Auch von der Existenz von 5-HT<sub>6</sub>-Rezeptoren im Striatum wurde berichtet (Gérard et al., 1996; Ruat et al., 1993a; Ward et al., 1995) und auch diese sollen ihre Effekte über den gleichen Transmissionsmechanismus wie dem des 5-HT<sub>4</sub>-Rezeptoren übertragen (Hoyer und Martin, 1997). Inwiefern die 5-HT<sub>4</sub>- bzw. 5-HT<sub>6</sub>-Rezeptoren an den serotoninerger Wirkungen innerhalb des Striatum beteiligt sind, bleibt weiterhin zu erforschen.

5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren wurden, zumindest bei Ratten, nur sehr selten bis gar nicht im Striatum gefunden (Morales und Bloom, 1997; Palacios et al., 1990) und deshalb scheint eine Mitbeteiligung dieses Subtypen an den Neuronen in dieser Studie weitestgehend ausgeschlossen.

Da auch von den 5-HT<sub>1B/1D</sub>-Rezeptoren, in geringem Umfang auch von den 5-HT<sub>1E</sub>- und 5-HT<sub>1F</sub>-Rezeptoren, bekannt ist, dass sie innerhalb des Caudato-Putamen der Ratte lokalisiert sind (Mengod et al., 1997; Palacios et al., 1990), ist eine Inhibition striataler Neurone durch diese Rezeptoren anzunehmen.

## **5.2. Lokalisation der untersuchten Neurone**

Der Hauptbestandteil der serotoninerger Projektionen in das Di- und das Telenzephalon stammt aus den rostralen mesopontinen Raphe-Kernen und aus den tegmentalern Kernen der supralemoniskalen Area B9 (Baumgarten und Grozdanovic, 1997; Törk, 1990). Dabei gelangen ein Drittel der serotoninerger Fasern aus den dorsalen Raphe-Kernen in einer topographischen Anordnung in das Striatum (siehe dazu auch Abschnitt 1.1.5.1.). Eine Akkumulation serotoninerger Varikositäten im ventromedialen und kaudalen Sektor des Striatum verschiedener Tierarten, u.a. auch der Ratte, wurde beobachtet. Dabei trafen ca. 100 bis 200 dieser 5-HT-Varikositäten auf ein neostriatales Neuron. Synaptische Verbindungen innerhalb des Neostriatum konnten jedoch nur in sehr geringem Umfang und nur an den dendritischen



Schäften bzw. den „spines“ nachgewiesen werden. Das bedeutet, dass eine Innervation durch Serotonin hauptsächlich über nichtsynaptische Kontakte vonstatten geht (Baumgarten und Grozdanovic, 1997; Descarries et al., 1990).

In der Vergangenheit erbrachten zahlreiche Studien Hinweise zur Verteilung der Serotonin-Rezeptoren innerhalb des Zentralnervensystems. Dabei standen verschiedene Methoden zur Verfügung, die sich teilweise ergänzten oder schon vorliegende Ergebnisse bestärkten. Besonders kamen dabei die Rezeptor-Autoradiographie und die Rezeptor-mRNA-in-situ-Hybridisation zur Anwendung. Fielen die Ergebnisse mit Hilfe der zuletzt genannten Methode positiv aus, so konnte angenommen werden, dass die entsprechenden 5-HT-Rezeptoren auch direkt in den Neuronen der untersuchten Region synthetisiert wurden.

Über die hauptsächliche Verteilung der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren besteht diesbezüglich relativ große Einigkeit zwischen den Autoren. Ein besonders starkes Vorkommen dieses Subtypen konnte bei verschiedenen Säugerarten innerhalb des Hippokampus, des dorsalen Raphe-Kerns und des lateralen Septum nachgewiesen werden (Dupuis et al., 1998; Frechilla et al., 2001; Ghavami et al., 1999; Hamon, 1997; Julius, 1991; Kia et al., 1996; Mengod et al., 1997; Palacios et al., 1990; Pazos und Palacios, 1985). Aber auch in verschiedenen Bereichen des Neokortex, des Hypothalamus oder des Rückenmarks ist der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorsubtyp relativ weit verbreitet (Hamon, 1997; Palacios et al., 1990). Dabei scheint sich dieser Subtyp, außer an den Neuronen der Raphe-Kerne, größtenteils auf die somato-dendritischen Nervenzellmembranen zu beschränken, was gleichzusetzen wäre mit einem Fehlen oder zumindest einem seltenen Auftreten des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren an den terminalen Endigungen von Projektionsfasern (Ghavami et al., 1999; Hamon, 1997; Kia et al., 1996).

Wie schon im vorangegangenen Abschnitt erwähnt, wurde im Neostriatum der Ratte von den meisten Autoren die Existenz des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren verneint. Nur vereinzelt wurde dieser Subtyp in dieser Region beschrieben. So erwähnte Hamon (1997), z.B., ein Vorhandensein von 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren im lateralen Caudato-Putamen. Von 5-HT<sub>1A</sub>-Autorezeptoren wird gesagt, dass sie die elektrische Aktivität der serotonergen Neurone inhibieren und dadurch die Serotonin-induzierte Neurotransmission reduzieren. Postsynaptisch lokalisierte Rezeptoren dieses Subtyps scheinen eine umgekehrte Wirkung, d.h. eine Förderung der Signalübertragung, zu besitzen (Greenstein und Greenstein, 2000; Hamon, 1997). Über die prä- bzw. postsynaptische Position des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren kann in der vorliegenden Studie keine Aussage getroffen werden. Jedoch konnte hier aufgrund der Ergebnisse eine Existenz des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren im Striatum der Ratte vermutet und deren jeweilige Lokalisation, indirekt über die auflichtmikroskopische Darstellung der untersuchten Neurone, nachvollzogen werden. Die

8-OH-DPAT-responsiven Neurone bevorzugten keine bestimmte Region innerhalb des Striatum, sondern folgten einer eher diffusen striatalen Verteilung.

Es lassen sich für die mit 8-OH-DPAT getestete Population somit kaum Parallelen zu der schon erwähnten Arbeit von Descarries et al. (1990) ziehen, die eine bevorzugte Lokalisation serotoninerger Varikositäten u.a. im ventromedialen Sektor des Striatum erwähnten. Jedoch konnte in der Serotonin-responsiven Neuronengruppe, zumindest in der kaudalen Region, eine statistisch gesicherte Bevorzugung des ventromedialen Striatum nachgewiesen werden. Da die von Descarries et al. (1990) beschriebenen 5-HT-Varikositäten hauptsächlich den terminalen Endigungen der Projektionsfasern aus dem dorsalen Raphe-Kern entspringen sollen, die zudem ein reichhaltiges 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorvorkommen aufweisen, ist eine Existenz dieses Rezeptorsubtypen innerhalb des Striatum, trotz der fehlenden ventromedialen Präferenz, durchaus denkbar. Allerdings widerspricht dies der fast ausschließlichen Beschränkung des 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren auf den somatodendritischen Bereich der Projektionsneurone (siehe oben). Johnson et al. (1993) jedoch vermuteten, dass diese Rezeptoren auch an den in das Striatum projizierenden dopaminergen Nervenendigungen lokalisiert sind.

Natürlich könnten die 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren auch postsynaptisch an den Membranen der medium-spiny Neurone existieren, allerdings konnte dahingehend bisher keine Literatur gefunden werden, zumindest was die Untersuchungen im Rattenhirn angeht. Wären die 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren zu einem bestimmten Anteil doch präsynaptisch an den terminalen Endigungen lokalisiert, bestünde die Möglichkeit, dass die 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren, sowie auch alle anderen in dieser Studie untersuchten Subtypen, einer Verteilung innerhalb des Striatum folgen, die den topographisch angeordneten Hauptprojektionen aus dem zerebralen Kortex entsprechen, da dieser auch einen relativ hohen 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoranteil aufweist (Palacios et al., 1990). Allerdings wurde über eine eventuelle präsynaptische Lage der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren an den terminalen Endigungen der Projektionsfasern in das Striatum bisher noch keine eindeutige Aussage getroffen.

Ob die 8-OH-DPAT-responsiven Neurone eher die Striosomen oder die Matrix bevorzugten, wurde nicht näher differenziert. Jedoch wäre, unter der Bedingung einer präsynaptischen Lage der Rezeptoren an den terminalen Endigungen, eine eher striosomale Lokalisation der aus dem Allokokortex stammenden 5-HT-Rezeptorsubtypen denkbar, da die Fasern aus diesem Gebiet größtenteils aus den infragranulären Schichten des zerebralen Kortex stammen, welche prinzipiell in die striatalen Striosomen projizieren. Es wurde allerdings bisher nichts darüber geäußert, ob in diesen infragranulären Schichten gehäuft 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren vorkommen. Der Neokortex dahingegen sendet seine Projektionen aus den supragranulären Schichten vor allem in

die Matrix (Parent, 1990). Damit ließe sich, unter der schon oben genannten, aber bisher nicht belegten Bedingung einer präsynaptischen Rezeptorlokalisation, auch die diffuse striatale 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Verteilung erklären.

Ward und Dorsa (1996) erbrachten Beweise darüber, dass die mit verschiedenen anderen Neuropeptiden (Enkephalin, Dynorphin, Substanz P) kolokalisierten 5-HT<sub>2A</sub>- und 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptoren im Neostriatum der Ratte einer spezifischen Verteilung folgten. Dabei favorisierten die ersteren besonders die posteriore Matrix und die letzteren den anterioren Teil des Striatum und dabei vor allem die Striosomen. Der in der vorliegenden Arbeit angewandte Serotoninagonist DOI weist eine spezifische Affinität zu beiden Rezeptorsubtypen auf, was bedeutet, dass bei den DOI-responsiven Neuronen nicht unterschieden werden konnte, welcher der beiden 5-HT-Rezeptoren letztendlich die Wirkung vermittelt hat. Aufgrund der anschließend erwähnten Ergebnisse aus vorangegangenen Arbeiten, ließe sich ein Vorherrschen des 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptors gegenüber dem 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptor im Striatum der Ratte vermuten. So induzierte DOI im Striatum der Ratte eine Inhibition der Dopaminfreisetzung (Ng et al., 1999) und dieser Effekt wurde den 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptoren zugeordnet (Gobert und Millan, 1999). Außerdem fanden Wolf und Schutz (1997) heraus, dass in den Basalganglien die Phospholipase-C-Aktivität hauptsächlich 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptor-vermittelt war.

Palacios et al. (1990) jedoch deuteten darauf hin, dass die 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptoren in höherem Maße im Striatum nachgewiesen werden konnten als dies bei den 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptoren der Fall gewesen zu sein schien. Vielleicht lag der Grund darin, dass die Striosomen, in denen, wie schon erwähnt, der 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptor bevorzugt vorkommen soll, im Gegensatz zur 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptor-reichen Matrix, ein geringeres Volumen im Striatum einnehmen.

Für eine überwiegende Beteiligung der 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptoren an den durch DOI hervorgerufenen Effekten dieser Studie würde die, statistisch allerdings nicht verifizierbare, Präferenz der responsiven Neurone des rostralen und kaudalen Teils des Striatum sprechen, denn es ist bekannt, dass der 5-HT<sub>2A</sub>-Rezeptor insbesondere im Corpus und in der Cauda des Striatum lokalisiert ist (Julius, 1991; Mengod et al., 1997; Pazos et al., 1985). Besonders zahlreich nachgewiesen werden konnte dieser Rezeptorsubtyp außerdem auch im Neokortex (Palacios et al., 1990) und hier vor allem an den GABAergen und Somatostatin-enthaltenden Neuronen (Abi-Saab et al., 1998; Julius, 1991). In Teilen des limbischen Systems wurden mittlere Konzentrationen dieses Rezeptorsubtyps gefunden.

Der 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptor unterliegt ebenfalls einer weiten Verbreitung innerhalb des Zentralnervensystems. Im Plexus choroideus konnten in außergewöhnlich hohem Maße 5-HT<sub>2C</sub>-Rezeptoren nachgewiesen werden. Wie schon erwähnt, war auch im Striatum dieser

Rezeptorsubtyp in mittleren Konzentrationen vorzufinden. Trotz der positiven Hinweise hinsichtlich der striatalen Verbreitung der 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren, war es um so verwunderlicher, dass relativ wenig der mit DOI untersuchten Neurone einen Effekt zeigten. Vielleicht lag der Grund darin, dass die jeweiligen Neurone außerhalb der genannten Präferenzgebiete der beiden 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren lagen. Des Weiteren könnte in Erwägung gezogen werden, dass in dieser Studie, statt der zahlreichen kleinen medium-spiny-Neurone, die Entladungsraten der großen „aspiny“-Interneurone abgeleitet wurden und an diesen die beiden Rezeptorsubtypen eventuell nicht existieren.

Eine Abhängigkeit des Serotonin-Rezeptorvorkommens könnte sowohl geschlechtsgebunden als auch speziesspezifisch bedingt, aber auch vom aktuellen Gesundheitszustand des gerade untersuchten Individuums abhängig sein. Frechilla et al. (2001) fanden dazu heraus, dass die gesunden Tiere einer bestimmten Affenart (*Macaca fascicularis*) innerhalb des Striatum sehr geringe 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorbindungsstellen aufwiesen mit starker Bevorzugung der Striosomen. Die Tiere jedoch, bei denen mit Hilfe eines dopaminergen Neurotoxins ein artifizielles Parkinson-Syndrom erzeugt wurde, zeigten im kaudalen Striatum, besonders im Putamen, eine erhöhte 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptor-Dichte. Diese „up-regulation“ der Rezeptoren scheint somit ein kompensatorischer Mechanismus bei bestimmten neurodegenerativen Prozessen mit einhergehender Serotonindysfunktion zu sein.

Die gleichzeitige Anwesenheit mehrerer Rezeptorsubtypen an den striatalen Neuronen kann aufgrund einiger positiver Ergebnisse in dieser Studie angenommen werden. Inwiefern sie innerhalb des Striatum interagieren, bleibt zu erforschen. Teilweise entgegengesetzte 5-HT<sub>1A</sub>/5-HT<sub>2</sub>-Interaktionen, z.B. hinsichtlich der Beeinflussung des Verhaltens und der Motorik, wurden nachgewiesen (Hensler und Truett, 1998; Krebs-Thomson und Geyer, 1998; Maswood und Uphouse, 1997; Ng et al., 1999).

### **5.3. CCK-8S und Serotonin im Striatum**

Das Neuropeptidfragment CCK-8S induzierte in dieser Studie an 26,2 % der untersuchten Zellen eine signifikante Erhöhung der Entladungsrate und suppressierte 13,1 % der striatalen CCK-8S-Population. Ein Vorherrschen aktivierender Einflüsse von Cholecystokinin auf die Neurone des Striatum und auf die Zellen in anderen Gebieten des Zentralnervensystems konnte schon in der Vergangenheit beobachtet werden (Davidowa et al., 1995 und 1998; Heidel und Davidowa,

1998; Jarvis et al., 1992; Lamour et al., 1983; Wetzell, 1997). Für die Übertragung der CCKergen Signale, sowohl in der Peripherie als auch im ZNS, kommen derzeit zwei CCK-Rezeptoren in Frage. Der innerhalb des ZNS weitaus verbreitetere und häufigere CCK<sub>B</sub>-Rezeptor scheint überwiegend Exzitationen zu vermitteln. Dabei können verschiedene Übertragungswege eine Rolle spielen (siehe dazu Abschnitt 1.1.5.4.). Über den CCK<sub>A</sub>-Rezeptoren, der in weitaus geringeren Konzentrationen im Säugerhirn vorkommen soll, konnten Hyper- und Depolarisationen beobachtet werden (Boden et al., 1991; Branchereau et al., 1993; Qian et al., 1993). Beide CCK-Rezeptortypen sind über das gesamte ZNS verteilt (Boden und Woodruff, 1994; Mercer und Beart, 1997; Schiffmann und Vanderhaeghen, 1991). Innerhalb des Striatum der Ratte konnte die Existenz beider CCK-Rezeptoren nachgewiesen bzw. in hohem Maße angenommen werden (Davidowa et al., 1995; Mercer und Beart, 1997; Wetzell, 1997). Dabei bevorzugte der CCK<sub>A</sub>-Rezeptor vor allem die Perikaryen der dorsomedial gelegenen Neurone des Caudato-Putamen (Mercer und Beart, 1997). Hinsichtlich des CCK<sub>B</sub>-Rezeptoren konnte keine Bevorzugung einer bestimmten striatalen Region nachgewiesen werden (Wetzell, 1997). Im Neostriatum des Makaken wurde autoradiographisch die CCK-Rezeptor-Verteilung untersucht und vor allem im ventromedialen und im posterioren Teil traten hierbei die CCK-Bindungsstellen in den Vordergrund. Die Anordnung dieser Bindungsstellen zeigte dabei eine teilweise Überlappung mit den kortikostriatalen Innervationsgebieten aus dem Assoziationskortex des Frontal- und Temporallappens (Kritzer et al., 1990). Auch bei der Ratte wurde der Ursprung des striatalen Cholecystokinins untersucht. So mündeten die anterograd markierten Projektionsfasern aus dem medialen präfrontalen Kortex bilateral besonders in die medialen und ventralen Teile des Caudato-Putamen und bevorzugten dabei vermutlich die striatale Matrix (Morino et al., 1994). Dass das striatale Cholecystokinin seinen Ursprung auch in dorsolateralen und lateralen neokortikalen Arealen beider Hemisphären hat, wurde von Meyer und Protopapas (1985) nachgewiesen. Sie zeigten außerdem, dass der anteriore zinguläre Kortex CCKerge Fasern bevorzugt in das dorsomediale Caput des Striatum sendet. You et al. (1994) erwähnten zusätzlich, dass das Cholecystokinin des medialen Caput und der Cauda des Striatum vor allem in den aus dem Mesenzephalon stammenden dopaminergen Endigungen zu finden war. Cholecystokinin wurde in vielerlei Hinsicht als modulatorisch wirksames Neuropeptid beschrieben. So zeigten Branchereau et al. (1992), z.B., dass CCK via CCK<sub>B</sub>-Rezeptoren GABAerge Interneurone des solitären Komplexes der Ratte beeinflusste und somit die inhibitorische Transmission steuerte. Auch wurde von Interaktionen zwischen exzitatorischen Aminosäuren bzw. deren Salze, wie Glutamat und Aspartat, innerhalb des Hippokampus und des Striatum der Ratte berichtet (Breukel et al., 1997; Hökfelt, 1997). Lamour et al. (1983) konnten

beobachten, dass im somatosensorischen Kortex die, durch mikroiontophoretisch verabreichtes Acetylcholin, induzierten Zellexzitationen durch Koapplikation mit CCK-8S in den meisten Fällen unterdrückt wurden. Des Weiteren verringerte CCK-8S, über CCK<sub>B</sub>-Rezeptoren, die Dopamin-Freisetzung im Neostriatum (Altar und Boyar, 1989). Dem unsulfatierten CCK-8-Fragment wurde eine neuromodulatorische Fähigkeit zugesprochen, da es im Striatum und im dorsalen zerebralen Kortex der Ratte die Dopamin-D<sub>2</sub>-Rezeptoranzahl reduzierte, gleichzeitig aber die Affinität für Dopamin heraufsetzte (Agnati et al., 1983). Hinsichtlich der Existenz des Dopamin-D<sub>2</sub>- und des CCK<sub>B</sub>-Rezeptoren im Caudatum der Ratte wurde von Hansson et al. (1998) herausgefunden, dass alle CCK<sub>B</sub>-Rezeptor-mRNA-positiven striatalen Neurone auch gleichzeitig D<sub>2</sub>-Rezeptor-mRNA enthielten und auch sie vermuteten eine CCK/Dopamin-Rezeptor-Interaktion im Striatum.

Das Monoamin Serotonin ist ebenfalls involviert an der Beeinflussung der Wirkung und/oder der Freisetzung anderer Neurotransmitter. Hierbei möchte ich auf den Abschnitt 1.1.5.3. verweisen, da an dieser Stelle relativ ausführlich auf verschiedene Interaktionen eingegangen wurde.

Wechselwirkungen zwischen Serotonin und Cholecystokinin innerhalb des Zentralnervensystems konnten in zahlreichen vorangegangenen Studien nachgewiesen werden. So zeigten Agnati et al. (1983), z.B., dass das Peptidfragment CCK-4 im dorsalen zerebralen Kortex der Ratte zu einer „up-regulation“ und zu einer Affinitätsabnahme der dort existierenden 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptoren führte. Eine über den CCK<sub>A</sub>-Rezeptorantagonisten Devazepin induzierte starke Anxiolyse bei Ratten wurde durch die gleichzeitige Gabe von einem der beiden angewandten Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer signifikant vermindert (Bickerdike et al., 1994). Auch Rex und Fink (1998) wiesen mit Hilfe eines gängigen Angstmodells bei Meerschweinchen nach, dass ein CCK-Rezeptor-spezifischer Einfluss auf die Angstinduktion und der damit assoziierten Serotoninausschüttung besteht. Sie zeigten, dass es über die Stimulation der CCK<sub>B</sub>-Rezeptoren zu einem Serotoninanstieg im lateralen präfrontalen Kortex und gleichzeitig zu einem anxiogenen Effekt kam. Über die CCK<sub>A</sub>-Rezeptoren dahingegen wurden entgegengesetzte Wirkungen vermittelt. Die Resultate der genannten Studien deuten damit auf eine CCK/5-HT-Interaktion in der Angstregulation hin.

Wie auch schon an anderer Stelle erwähnt, wurde an Neuronen des ventromedialen Hypothalamus der jeweils alleinige als auch der gemeinsame Effekt von CCK-8S und Serotonin auf die Entladungsrate getestet. Die separate Gabe beider Substanzen führte dabei zu reziproken Änderungen der Impulsrate. Die Koapplikation von CCK-8S und Serotonin an diesen Neuronen führte dazu, dass die suppressive Serotonin-Wirkung signifikant reduziert werden konnte (Heidel und Davidowa, 1998). In verschiedenen Regionen des Telenzephalon der Ratte konnte an

GABAergen Interneuronen beobachtet werden, dass diese häufig sowohl 5-HT<sub>3</sub>- als auch CCK-Rezeptoren aufweisen. Besonders viele dieser mit beiden Rezeptoren ausgestatteten Neurone konnten dabei im motorischen, prälimbischen und visuellen Kortex gefunden werden. Es wurde aufgrund dieser Beobachtungen die Vermutung geäußert, dass Serotonin über den 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren die GABA- bzw. CCK-induzierte Neurotransmission reguliert und somit Einfluss nimmt auf inhibitorische und disinhibitorische Funktionskreisläufe innerhalb des Telenzephalon (Morales und Bloom, 1997). Dazu passen auch die Ergebnisse von Paudice und Raiteri (1991), die in ihrer Arbeit eine über 5-HT<sub>3</sub>-Rezeptoren gesteuerte Freisetzung von Cholecystokinin aus den Synaptosomen der terminalen Nervenendigungen des zerebralen Kortex und des Nucleus accumbens nachwiesen. In einer späteren Studie wurde herausgefunden, dass CCK<sub>4</sub>-induzierte Panikattacken beim Menschen durch den Serotonin-Wiederaufnahme-Hemmer Fluvoxamin signifikant reduziert werden konnten (Van Megen et al., 1997). Über die Regionen des ZNS, die an dieser durch Serotonin hervorgerufenen Anxiolyse beteiligt waren, konnte jedoch nichts geäußert werden. Eine Beteiligung des Striatum an der Regulation des durch Furcht oder Angst induzierten Verhaltens scheint nicht ausgeschlossen, da es, wie oben erwähnt, zahlreiche Inputs aus dem Kortex, welcher selbst einen Hauptbestandteil des Angstkreises darstellt (Greenstein und Greenstein, 2000), erhält.

Untersuchungen zu CCK/5-HT-Interaktionen innerhalb des Striatum wurden bisher offenbar noch nicht durchgeführt. Deshalb war ein Anliegen dieser Arbeit, potentiell existierende Wechselwirkungen zwischen diesen beiden Neurotransmittern herauszufinden.

An einer Gesamtpopulation von 71 Neuronen wurden CCK-8S und Serotonin, sowohl allein als auch in Koapplikation getestet. Dabei führte die separate Gabe beider Substanzen bei den responsiven Neuronen zu einer Dominanz der aktivierenden Einflüsse auf die neuronalen Entladungsraten. Dieser Trend konnte zwar auch bei der kombinierten Verabreichung von Serotonin und CCK-8S beobachtet werden, jedoch war die Gesamtresponsivitätsrate dabei geringer als bei der jeweiligen alleinigen Applikation. In den Populationen, in denen die alleinige CCK-8S- bzw. Serotonin-Gabe jeweils zu einer Zellhemmung führten, kam es während der Koapplikation zu einer Abschwächung oder sogar zu einer Umkehr der separat induzierten Neuroneneffekte. Diese Beobachtung legt zum einen die Vermutung nahe, dass beide Substanzen die Fähigkeit besitzen, die Effekte verschiedener Neurotransmitter zu modulieren und zum anderen scheinen sich CCK-8S und Serotonin in ihrer Wirkung, zumindest zum Teil, wechselseitig zu beeinflussen. Inwiefern sie dabei innerhalb des Striatum in Bezug auf die Angstentstehung gegenregulatorisch tätig werden, bleibt zu erforschen. Jedoch wurde schon anhand von Untersuchungen in einem anderen zentralnervösen Bereich, nämlich dem zerebralen

Kortex, entdeckt, dass die im Stadium der Angst existierende CCK-Erhöhung durch verschiedene 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten verhindert bzw. die Gabe dieser Agonisten zu einer Blockierung des anxiogenen CCK-Effektes führte (Becker et al., 1999; Rex et al., 1997; siehe dazu auch Kapitel 2). Auch die Beobachtungen von Van Megen et al. (1997) und von Bickerdike et al. (1994; siehe oben) unterstützen die Hypothese einer teilweisen reziproken CCK/5-HT-Wirkung im ZNS.

Wie im Ergebnisteil beschrieben, konnten hinsichtlich der 71 sowohl mit CCK-8S als auch mit Serotonin untersuchten Neurone keine spezifischen striatalen Verteilungsmuster festgestellt werden. Die somit eher diffuse Neuronenverteilung entsprach vermutlich einigen, der an anderer Stelle erwähnten, kortikostriatalen Projektionsgebieten.

Vandermaelen et al. (1979) konnten nachweisen, dass eine Stimulation der Neurone des Nucleus Raphe dorsalis zu einer Exzitation striataler Neurone führte. Ob diese Effekte an den Neuronen des Caudato-Putamen Serotonin-vermittelt waren, wurde nur vermutet. In nachfolgenden Arbeiten wurde gezeigt, dass bestimmte Teile des serotoninergen Nucleus Raphe dorsalis topographisch angeordnete Projektionsfasern, an welchen eine Koexistenz von CCK-8S- und Serotonin-Rezeptoren beschrieben wurde (Boden et al., 1991; Hamon, 1997; Palacios et al., 1990), in das Striatum sendet, und mit der Bedingung einer präsynaptischen Lage der CCK- bzw. Serotonin-Rezeptoren könnte das diffuse striatale Verteilungsmuster der mit CCK-8S und Serotonin untersuchten Neurone erklärt werden.

Welche CCK- bzw. Serotonin-Rezeptorsubtypen an den in dieser Studie beobachteten Interaktionen beteiligt waren, bleibt noch zu erforschen. Jedoch kann angenommen werden, dass aufgrund der beobachteten Zellaktivierungen und –hemmungen der mit CCK-8S und Serotonin untersuchten Teilpopulationen beide CCK-Rezeptorsubtypen involviert gewesen zu sein schienen. Dies wäre auch in Übereinstimmung mit den Ergebnissen in schon vorliegenden Studien, in welchen die Existenz beider CCK-Rezeptoren im Striatum indirekt nachgewiesen werden konnte (Davidowa et al., 1995; Wetzel, 1997)

Ob auch 5-HT<sub>1A</sub>- bzw. 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptoren an den CCK-/5-HT-Interaktionen beteiligt waren, ist mit den hier vorliegenden Daten leider nicht eruierbar.

Es ist bekannt, dass CCK<sub>B</sub>- und 5-HT<sub>2</sub>-Rezeptorantagonisten sowie 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonisten anxiolytisch wirksam sind (Mosconi et al., 1993) und eine Kombination dieser Einzelwirkungen schafft in naher Zukunft vielleicht Medikamente zum optimalen therapeutischen Einsatz bei verschiedenen psychiatrischen Erkrankungen.



## 6. Zusammenfassung

An mit Urethan narkotisierten männlichen „Wistar“-Ratten erfolgte die extrazelluläre Einzelableitung der Aktionspotenziale von insgesamt 159 striatalen Neuronen. Mit Hilfe einer Mehrkanalelektrode wurden in die Nähe der Zellen mikroiontophoretisch verschiedene Substanzen appliziert (Serotonin, der 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoragonist 8-OH-DPAT, der 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptoragonist DOI, die 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorantagonisten WAY 100635 und S-UH 301, der 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptorantagonist Ketanserin sowie das Neuropeptid CCK-8S) und deren Einfluss auf die Entladungsrate der striatalen Neurone geprüft. Nach Anfärbung der untersuchten Neurone sowie anschließender Fixierung der entnommenen Rattenhirne konnte postexperimentell an Frontalschnitten die Lokalisation der Neurone, orientierend am histologischen Atlas von Paxinos und Watson (1986), bestimmt und damit indirekt die mögliche Verteilung der 5-HT<sub>1A</sub>- sowie der 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptorsubtypen innerhalb des Striatum nachvollzogen werden.

Bezug nehmend auf die Fragestellungen im Kapitel 2 stellten sich folgende Ergebnisse in dieser Studie heraus.

1. Von den insgesamt 99 mit Serotonin untersuchten striatalen Neuronen antworteten 35 mit einer signifikanten Erhöhung und 12 mit einer signifikanten Verminderung der Entladungsraten. Damit zeigte sich eine Gesamtresponsivitätsrate von 47,5 %.

2. Der 5-HT<sub>1A/7</sub>-Rezeptoragonist 8-OH-DPAT induzierte an 39 der insgesamt 110 mit diesem Agonisten geprüften Neuronen eine signifikante Änderung der Entladungsraten, wobei hierbei, wie bei Serotonin auch, die Aktivierung im Vordergrund stand (n = 26).

An 53 Neuronen, die sowohl mit 8-OH-DPAT als auch mit Serotonin getestet worden waren, erfolgte die Gegenüberstellung der jeweiligen Effekte während der frühen bzw. späten Antwortperioden, wobei sich für beide Perioden signifikante Spearmansche Korrelationskoeffizienten ergaben, mit einer besonders hohen Signifikanz in den späten Antwortphasen ( $p < 0,001$ ). Die Korrelation der Serotonin-induzierten mit den 8-OH-DPAT-induzierten Effekten, die deutlicher in den späten Perioden zu beobachten war, spricht dafür, dass die Serotonin-induzierten Wirkungen zum Teil über 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren vermittelt waren. An 15 der 53 sowohl mit Serotonin als auch mit 8-OH-DPAT untersuchten Neurone induzierten

beide Substanzen einen Effekt, wobei hier in 80 % der Fälle eine Aktivierung durch beide Agonisten auftrat.

An insgesamt 20 8-OH-DPAT-responsiven Neuronen wurde mindestens einer der beiden 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptorantagonisten WAY 100635 bzw. S-UH 301 getestet, wobei an 17 (85 %) dieser 20 Nervenzellen die jeweilige 8-OH-DPAT-induzierte Wirkung blockiert wurde.

Die Effekte, die Serotonin an 5 Neuronen hervorrief, wurden in 2 Fällen durch WAY 100635 und/oder S-UH 301 blockiert.

Im Gegensatz zu Serotonin und 8-OH-DPAT führte DOI nur an insgesamt 14 (21,2 %) von 66 Neuronen zu einer Antwort, wobei 8 davon supprimiert und 6 aktiviert wurden. Des Weiteren ergab sich hinsichtlich der Effekte der 42 sowohl mit DOI als auch mit Serotonin getesteten Neurone, im Vergleich zur gemeinsam mit 8-OH-DPAT und Serotonin untersuchten Population, für die späten Antwortperioden ein weitaus geringerer und gleichzeitig nichtsignifikanter Korrelationskoeffizient  $r$ , d.h. diese Effekte in den späten Phasen ähnelten sich nicht. Für die frühen Perioden konnte ein signifikantes  $r$  ermittelt und damit eine Korrelation der Serotonineffekte mit den DOI-Effekten aufgezeigt werden, d.h. die frühen Serotonin-induzierten Antworten könnten teilweise 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptor-vermittelt gewesen sein. Nur 6 dieser 42 Neurone reagierten auf beide Substanzen, wobei allerdings 5 davon gleichartige Antworten (4 Aktivierungen, eine Hemmung) aufwiesen.

An 2 von insgesamt 3 durch DOI gehemmten Neuronen führte die Applikation von Ketanserin zu einer Blockierung der jeweiligen DOI-Antworten.

Auf ein gehäuftes Vorkommen von 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptoren an striatalen Zellen, wie dies in vorangegangenen Studien beschrieben wurde (Palacios et al., 1990; Pazos et al., 1985; Wolf und Schutz, 1997), lässt sich mit den genannten Resultaten in dieser Studie nicht schließen.

Jedoch kann ein Vorhandensein von 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren innerhalb des Striatum der Ratte, trotz der meist negativen Hinweise dahingehend (Julius, 1991; Palacios et al., 1990; Pazos und Palacios, 1985), aufgrund der Ergebnisse in dieser Studie in hohem Maße angenommen werden.

Auch lässt sich eine gleichzeitige Anwesenheit mehrerer Serotonin-Rezeptorsubtypen an einigen Neuronen in dieser Studie vermuten.

**3.** Es konnte beobachtet werden, dass die durch Serotonin aktivierten Neurone ( $n = 35$ ) größtenteils die ventromedialen striatalen Bereiche bevorzugten. Betrachtet man die supprimierte Neuronenpopulation ( $n = 12$ ), so zeigte sich eine relativ gleichmäßige Verteilung über das gesamte Striatum.

In keiner der drei Teilgebiete (rostraler, mittlerer, kaudaler Teil) zeigte sich ein signifikanter Verteilungsunterschied der Serotonin-responsiven zu den nichtresponsiven Neuronen.

Letzteres galt ebenfalls für die mit 8-OH-DPAT getestete Population.

Es lässt sich somit vermuten, dass 5-HT<sub>1A</sub>-Rezeptoren eher einer diffusen striatalen Verteilung unterliegen.

Die DOI-responsiven Neurone zeigten eine leichte Präferenz des rostralen und des kaudalen striatalen Bereichs, der jedoch, aufgrund des sehr geringen Stichprobenumfanges, statistisch nicht verifiziert werden konnte. Deshalb lässt sich die Mutmaßung über eine bevorzugte rostrale und kaudale Verteilung der 5-HT<sub>2A/2C</sub>-Rezeptoren im Striatum nur mit Vorsicht äußern.

Von den 71 sowohl mit Serotonin als auch mit CCK-8S untersuchten Neuronen waren, unabhängig von der jeweiligen Responsivität, die meisten (n = 43) im rostralen und die wenigsten (n = 11) im kaudalen Striatum lokalisiert. Trotzdem zeigten die responsiven Neurone dieser Population eine eher diffuse Verteilung über alle Regionen des Striatum.

**4.** In den drei Populationen, die mit Serotonin, 8-OH-DPAT bzw. DOI getestet worden waren, wiesen jeweils ca. 50 % der Zellen Grundaktivitäten von  $\leq 1$  Imp./s auf und waren damit als sehr langsam einzuschätzen.

Etwas weniger als zwei Drittel der mit Serotonin (64,6 %) und 8-OH-DPAT (64,5 %) sowie 72,7 % der mit DOI untersuchten Populationen könnten, aufgrund ihrer geringen Spontanentladungsraten von jeweils  $\leq 2$  Imp./s, medium-spiny Neurone gewesen sein. Die übrigen Neurone, deren jeweilige Grundaktivität  $> 2$  Imp./s betrug (schnelle Neurone), gehörten vermutlich zur Gruppe der großen cholinergen Interneurone.

Eine statistisch gesicherte Abhängigkeit der Ansprechbarkeit der Neurone auf die verabreichten Substanzen von der Höhe der jeweiligen Ruheentladungsrate ( $\leq 2$  Imp./s [langsame Rate] bzw.  $> 2$  Imp./s [schnelle Rate]) konnte in keiner der drei oben genannten Hauptpopulationen nachgewiesen werden. Die Grundaktivität der durch Serotonin aktivierten Zellen war allerdings signifikant geringer als die der gehemmten Zellen.

**5.** Von den 84 mit dem Neuropeptid CCK-8S geprüften striatalen Neuronen wurden 22 (26,2 %) aktiviert und 11 (13,1 %) gehemmt.

An 71 der 84 Neurone wurde zusätzlich Serotonin appliziert und dessen Effekt sowohl allein als auch in Koapplikation mit CCK-8S geprüft. Dabei konnte beobachtet werden, dass unter den responsiven Neuronen sowohl bei der jeweiligen alleinigen als auch der gemeinsamen Gabe

beider Substanzen die Aktivierung überwog. Jedoch war die Gesamtresponsivitätsrate bei der Koapplikation von Serotonin und CCK-8S, im Vergleich zur alleinigen Gabe, geringer, was auch durch einen signifikanten  $\chi^2$ -Test und durch die Ergebnisse des Wilcoxon-Tests bestätigt werden konnte.

Es konnte weiterhin festgestellt werden, dass besonders die hemmenden Effekte, welche durch die separate CCK-8S- bzw. Serotonin-Gabe hervorgerufen worden waren, während der Koapplikation abgeschwächt oder sogar umgekehrt wurden.

Aus diesen Ergebnissen kann geschlussfolgert werden, dass sowohl CCK-8S als auch Serotonin in der Lage sind, die Ansprechbarkeit eines Neurons auf verschiedene Weise zu modulieren. Ob und in welchem Maße dieses letztgenannte Ergebnis eine therapeutische Relevanz zur Behandlung bestimmter Erkrankungen, bei denen Störungen im Striatum mit ursächlich sind, hat, bleibt zu erforschen.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Abi-Saab WM, Bubser M, Roth RH; Deutch AY (1999): 5-HT<sub>2</sub> receptor regulation of extracellular GABA levels in the prefrontal cortex, *Neuropsychopharmacology* 20(1):92-96
2. Aghajanian GK und Andrade R (1997): Electrophysiology of 5-HT receptors, Kapitel 19:499-535, In: Baumgarten HG und Göthert M (Hrsg.): Serotoninerge neurons and receptors in the CNS, *Handbook of Exp Pharmacol* 129, Springer-Verlag, Berlin
3. Aghajanian GK, Sprouse JS, Sheldon P, Rasmussen K. (1990): Electrophysiology of the Central Serotonin System: receptor subtypes and transducer mechanisms, *Ann NY Acad Sci* 600:93-103
4. Agnati LF, Fuxe K, Benfenati F, Celani MF, Battistini N, Mutt V, Cavicchioli L, Galli G, Hökfelt T (1983): Differential modulation by CCK-8 and CCK-4 of [<sup>3</sup>H]spiperone binding sites linked to dopamine and 5-HT receptors in the brain of the rat, *Neurosci Lett* 35:179-183
5. Albrecht D und Davidowa H (1989): Action of urethane on dorsal lateral geniculate neurons, *Brain Res Bull* 22:923-927
6. Alexander GE und Crutcher MD (1990): Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing, *Trends neurosci* 13:266-271
7. Alexander GE, DeLong MR, Strick PL (1986): Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex, *Annu Rev Neurosci* 9:357-381
8. Altar CA und Boyar WC (1989): Brain CCK-B receptors mediate the suppression of dopamine release by cholecystokinin, *Brain Res* 483:321-326
9. Baumgarten HG und Grozdanovic Z (1997): Anatomy of central serotoninerge projection systems, Kapitel 2:41-89, In: Baumgarten HG und Göthert M (Hrsg.): Serotoninerge neurons and receptors in the CNS, *Handbook of Exp Pharmacol* 129, Springer-Verlag, Berlin
10. Baxter LR, Schwartz JM, Bergman KS, Szuba MP, Guze BH, Mazziotta JC, Alazraki A, Selin CE, Ferng H-K, Munford P, Phelps ME (1992): Caudate glucose metabolic rate changes with both drug and behavior therapy for obsessive-compulsive disorder, *Arch Gen Psychiatry* 49:681-689
11. Becker C, Hamon M, Benoliel JJ (1999): Prevention by 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonists of restraint stress- and yohimbine-induced release of cholecystokinin in the frontal cortex of the freely moving rat, *Neuropharmacology* 38:525-532

12. Becquet D, Faudon M, Hery F (1990): In vivo evidence for an inhibitory glutamatergic control of serotonin release in the cat caudate nucleus: involvement of GABA neurons, *Brain Res* 519:82-88
13. Bickerdike MJ, Marsden CA, Dourish CT, Fletcher A (1994): The influence of 5-HT reuptake blockade on CCK receptor antagonist effects in the rat elevated zero-maze, *Eur J Pharmacol* 271:403-411
14. Bijak M und Misgeld U (1997): Effects of serotonin through serotonin<sub>1A</sub> and serotonin<sub>4</sub> receptors on inhibition in the guinea-pig dentate gyrus in vitro, *Neuroscience* 78(4):1017-1026
15. Blakely RD, Ramamoorthy S, Qian Y, Schroeter S, Bradley CC (1997): Regulation of antidepressant-sensitive serotonin transporters, Kapitel 2:29-72, In: Reith MEA (Hrsg.): Neurotransmitter transporters – structure, function, and regulation, Humana Press, Totowa-New Jersey
16. Blank T, Zwart R, Nijholt I, Spiess J (1996): Serotonin 5-HT<sub>2</sub> receptor activation potentiates N-Methyl-D-Aspartate receptor-mediated ion currents by a protein kinase C-dependent mechanism, *J Neurosci Res* 45:153-160
17. Bockaert J, Fagni L, Dumuis A (1997): 5-HT<sub>4</sub> receptors - an update, Kapitel 17:439-474, In: Baumgarten HG und Göthert M (Hrsg.): Serotonergic neurons and receptors in the CNS, *Handbook of Exp Pharmacol* 129, Springer-Verlag, Berlin
18. Boden PR und Woodruff GN (1994): Ionic mechanisms underlying cholecystokinin action in rat brain, *Ann NY Acad Sci* 713:129-137
19. Boden PR, Woodruff GN, Pinnock RD (1991): Pharmacology of a cholecystokinin receptor on 5-hydroxytryptamine neurones in the dorsal raphe of the rat brain, *Br J Pharmacol* 102:635-638
20. Branchek TA und Zgombick JM (1997): Molecular biology and potential functional role of 5-HT<sub>5</sub>, 5-HT<sub>6</sub> and 5-HT<sub>7</sub> receptors, Kapitel 18:475-497, In: Baumgarten HG und Göthert M (Hrsg.): Serotonergic neurons and receptors in the CNS, *Handbook of Exp Pharmacol* 129, Springer-Verlag, Berlin
21. Branchereau P, Champagnat J, Roques BP, Denavit-Saubié M (1992): CCK modulates inhibitory synaptic transmission in the solitary complex through CCK<sub>B</sub> sites, *Neuroreport* 3:909-912
22. Branchereau P, Champagnat J, Denavit-Saubié M (1993): Cholecystokinin-gated currents in neurons of the rat solitary complex in vitro, *J Neurophysiol* 70:2584-2595

23. Breukel AIM, Lopes da Silva FH, Ghijsen WEJM (1997): Cholecystokinin (CCK-8) modulates vesicular release of excitatory amino acids in rat hippocampal nerve endings, *Neurosci Lett* 234:67-70
24. Brewerton TD, Brandt HA, Lessem MD, Murphy DL, Jimerson DC (1990): Serotonin in eating disorders, Kapitel 7:153-184, In: Coccaro EF und Murphy DL (Hrsg.): Serotonin in major psychiatric disorders, American Psychiatric Press Inc., Washington DC-London
25. Calabresi P, De Murtas M, Bernardi G (1997): The neostriatum beyond the motor function: experimental and clinical evidence, *Neuroscience* 78(1):39-60
26. Carli M und Samanin R (2000): The 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist 8-OH-DPAT reduces rats accuracy of attentional performance and enhances impulsive responding in a five-choice serial reaction time task- role of presynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors, *Psychopharmacology (Berlin)* 149(3):259-268
27. Charney DS, Woods SC, Krystal JH, Nagy LM, Heninger GR (1990): Hypotheses relating serotonergic dysfunction to the etiology and treatment of panic and generalized anxiety disorders, Kapitel 6:127-152, In: Coccaro EF und Murphy DL (Hrsg.): Serotonin in major psychiatric disorders, American Psychiatric Press Inc., Washington DC-London
28. Coccaro EF, Siever LJ, Owen KR, Davis KL (1990): Serotonin in mood and personality disorder, Kapitel 4:69-98, In: Coccaro EF und Murphy DL (Hrsg.): Serotonin in major psychiatric disorders, American Psychiatric Press Inc., Washington DC-London
29. Csernansky JG, Poscher M, Faull KF (1990): Serotonin in schizophrenia, Kapitel 9:209-230, In: Coccaro EF und Murphy DL (Hrsg.): Serotonin in major psychiatric disorders, American Psychiatric Press Inc., Washington DC-London
30. Dahlström A und Fuxe K (1964): Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in cell bodies of brain stem neurons, *Acta Physiol Scand Suppl* 232:1-55
31. Darmani NA und Zhao W (1998): Production of serotonin syndrome by 8-OH-DPAT in *Cryptotis parva*, *Physiol Behav* 65(2):327-331
32. Davidowa H, Albrecht D, Gabriel HJ, Heublein S, Wetzel K (1995): Cholecystokinin excites neostriatal neurones in rats via CCK<sub>A</sub> or CCK<sub>B</sub> receptors, *Eur J Neurosci* 7:2364-2369
33. Davidowa H, Vierig G, Wilms K (1998): Effects of cholecystokinin, serotonin and its iontophoretical coadministration on thalamic neurones in rats, *Pflügers Arch* 435 (6) R 135
34. Descarries L, Audet MA, Doucet G, Garcia S, Oleskevich S, Sèguèla P, Soghomonian J-J, Watkins KC (1990): Morphology of central serotonin neurons: brief review of quantified aspects of their distribution and ultrastructural relationships, *Ann NY Acad Sci* 600:81-92

35. Dupuis DS, Palmier C, Colpaert FC, Pauwels PJ (1998): Autoradiography of serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor-activated G- proteins in guinea pig brain sections by agonist- stimulated [<sup>35</sup>S] GTPγS binding, *J Neurochem* 70(3):1258-1268
36. Durieux C, Pèlapat D, Charpentier B, Morgat J-L, Roques BP (1988): Characterization of [<sup>3</sup>H]CCK-4 binding sites in mouse and rat brain, *Neuropeptides* 12:141-148
37. Duus P (1995): *Neurologisch- topische Diagnostik*, 6. Auflage, Thieme- Verlag, Stuttgart-New York
38. Eaton SA und Salt TE (1989): Modulatory effects of serotonin on excitatory amino acid responses and sensory synaptic transmission in the ventrobasal thalamus, *Neuroscience* 33:285-292
39. El Mansari M und Blier P (1997): In vivo electrophysiological characterization of 5-HT receptors in the guinea pig head of caudate nucleus and orbitofrontal cortex, *Neuropharmacology* 36(4/5):577-588
40. Estler CJ (1992): *Pharmakologie und Toxikologie*, 3. Auflage, Schattauer-Verlag, Stuttgart-New York
41. Filakovszky J, Gerber K, Bagdy G (1999): A serotonin-1A receptor agonist and an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist oppose each others effects in a genetic rat epilepsy model, *Neurosci Lett* 261:89-92
42. Fletcher A, Cliffe IA, Dourish CT (1993): Silent 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonists: utility as research tools and therapeutic agents. *Trends Pharmacol* 14:441-448
43. Foehring RC (1996): Serotonin modulates N- and P-type calcium currents in neocortical pyramidal neurons via a membrane-delimited pathway, *J Neurophysiol* 75(2):648-659
44. Forster EA, Cliffe IA, Bill DJ, Dover GM, Jones D, Reilly Y, Fletcher A (1995): A pharmacological profile of the selective 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist WAY 100635, *Eur J Pharmacol* 281:81-88
45. Forth W, Henschler D, Rummel W, Starke K (1992): *Allgemeine. und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 6. Auflage, BI-Wissenschaftsverlag, Mannheim-Leipzig-Wien-Zürich
46. Frechilla D, Cobreros A, Saldise L, Moratalla R, Insausti R, Luquin M, Del Rio J (2001): Serotonin 5-HT(1A) receptor expression is selectively enhanced in the striosomal compartment of chronic parkinsonian monkeys, *Synapse* 39(4):288-296
47. Frimmer M (1986): *Pharmakologie und Toxikologie*, 3. Auflage, Schattauer-Verlag, Stuttgart, New York



48. Gèrard C, el Mestikawy S, Lebrand C, Adrien J, Ruat M, Traiffort E, Hamon M, Martres MP (1996): Quantitative RT-PCR distribution of serotonin 5-HT<sub>6</sub> receptor mRNA in the central nervous system of control or 5,7-dihydroxytryptamine-treated rats, *Synapse* 23:164-173
49. Gerber K, Filakovszky J, Halasz P, Bagdy G (1998): The 5-HT<sub>1A</sub> agonist 8-OH-DPAT increases the number of spike-wave discharges in a genetic rat model of absence epilepsy, *Brain Res* 807:243-245
50. Ghavami A, Stark KL, Jareb M, Ramboz S, Sègu L, Hen R (1999): Differential addressing of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptors in epithelial cells and neurons, *J Cell Sci* 112:967-976
51. Glennon RA (1990): Serotonin receptors: clinical implications, *Neurosci Biobehav Rev* 14:35-47
52. Gobert A und Millan MJ (1999): Serotonin (5-HT)<sub>2A</sub> receptor activation enhances dialysate level of dopamine and noradrenalin, but not 5-HT, in the frontal cortex of freely-moving rats, *Neuropharmacology* 38:315-317
53. Göthert M und Schlicker E (1997): Regulation of 5-HT release in the CNS by presynaptic 5-HT autoreceptors and by 5-HT heteroreceptors, Kapitel 12:307-350, In: Baumgarten HG und Göthert M (Hrsg.): Serotonergic neurons and receptors in the CNS, *Handbook of Exp Pharmacol* 129, Springer-Verlag, Berlin
54. Graybiel AM (1990): Neurotransmitters and neuromodulators in the basal ganglia, *Trends Neurosci* 13:244-254
55. Greenstein B und Greenstein A (2000): Color atlas of neuroscience- neuroanatomy and neurophysiology, Thieme-Verlag, Stuttgart-New York
56. Groenewegen HJ, Berendse HW, Wolters JG, Lohman AHM (1990): The anatomical relationship of the prefrontal cortex with the striatopallidal system, the thalamus and the amygdala: evidence for a parallel organization, *Prog Brain Res* 85:95-118
57. Gyermek L (1996): Pharmacology of serotonin as related to anesthesia, *J Clin Anesth* 8:402-425
58. Hajos-Korcsok E, McQuade R, Sharp T (1999): Influence of 5-HT<sub>1A</sub> receptors on central noradrenergic activity: microdialysis studies using (±)MDL 73005EF and its enantiomers, *Neuropharmacology* 38:299-306
59. Hamon M (1997): The main features of central 5-HT<sub>1A</sub> receptors, Kapitel 9:239-268, In: Baumgarten HG und Göthert M (Hrsg.): *Handbook of Exp Pharmacol* 129, Springer-Verlag, Berlin
60. Hansson AC, Andersson A, Tinner B, Cui X, Sommer W, Fuxe K (1998): Existence of striatal nerve cells coexpressing CCK-B and D2 receptor mRNAs, *Neuroreport* 9:2035-2038

61. Hartig PR (1997): Molecular biology and transductional characteristics of 5-HT receptors, Kapitel 7:175-212, In: Baumgarten HG und Göthert M( Hrgb.): Handbook of Exp Pharmacol 129, Springer-Verlag, Berlin
62. Heidel E und Davidowa H (1998): Interactive effects of cholecystokinin-8S and serotonin on spontaneously active neurons in ventromedial hypothalamic slices, *Neuropeptides* 32(5):423-429
63. Heimer L, Zahm DS, Alheid GF (1995): Basal ganglia, Kapitel 23, In: Paxinos G (Hrgb.): The rat nervous system, 2. Auflage, Academic Press, San Diego-New York-Boston-London-Sydney-Tokyo-Toronto
64. Hensler JG und Truett KA (1998): Effect of chronic serotonin-2-receptor agonist or antagonist administration on serotonin 1A receptor sensitivity, *Neuropsychopharmacology* 19(5):354-364
65. Herz A und Zieglgänsberger W (1968): The influence of microiontophoretically applied biogenic amines, cholinomimetics and procain on synaptic excitation in the corpus striatum, *Int J Neuropharmacol* 7:221-230
66. Heublein S (1995): Der Einfluß von Cholezystokinin auf die Aktionspotentialfrequenz von Neuronen im Neostriatum; Med. Diss., Berlin
67. Hökfelt T (1997): Interactions between CCK, dopamine, glutamate and aspartate in the rat striatum, *J Neural Transm* 104:1141-1142
68. Hoyer D und Martin G (1997): 5-HT receptor classification and nomenclature: towards a harmonization with the human genome, *Neuropharmacology* 36(4/5):419-428
69. Hughes J, Dockray G, Woodruff G (Hrgb.) (1989): The neuropeptide cholecystokinin (CCK): anatomy and biochemistry, receptors, pharmacology and physiology, Ellis Horwood limited, Chichester
70. Ichikawa J und Meltzer HY (2000): The effect of serotonin<sub>(1A)</sub> receptor agonism on anti-psychotic drug-induced dopamine release in rat striatum and nucleus accumbens, *Brain Res* 858(2):252-263
71. Insel TR (1992): Toward a neuroanatomy of obsessive-compulsive disorder, *Arch Gen Psychiatry* 49:739-744
72. Jarvis CR, Bourque CW, Renaud LP (1992): Depolarizing action of cholecystokinin on rat supraoptic neurones in vitro, *J Physiol* 458:621-623
73. Jeong HJ, Han SH, Min BI, Cho YW (2001): 5-HT<sub>1A</sub>-receptor-mediated activation of G-protein-gated inwardly rectifying K<sup>+</sup> current in rat periaqueductal gray neurons, *Neuropharmacology* 41(2):175-185

74. Johnson EA, Tsai CE, Shahan YH, Azzaro AJ (1993): Serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptors mediate inhibition of tyrosine hydroxylation in rat striatum, *J Pharmacol Exp Ther* 266(1):133-140
75. Julius D (1991): Molecular biology of serotonin receptors, *Annu Rev Neurosci* 14:335-360
76. Kaufmann R, Lindschau C, Buchner K, Ott T (1992): CCK<sub>B</sub> receptor stimulation mediates [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> increase but no PKC activation in Jurkat T-cells, *Neuroreport* 3:697-699
77. Kawaguchi Y, Wilson CJ, Augood SJ, Emson PC (1995): Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization, *Trends Neurosci* 18:527-535
78. Kaye WH (1997): Anorexia nervosa, obsessional behavior and serotonin, *Psychopharmacol Bull* 33:335-344
79. Kia HK, Miquel M-C, Brisorgueil M-J, Daval G, Riad M, el Mestikawy S, Hamon M, Vergé D (1996): Immunohistochemical localization of serotonin<sub>1A</sub> receptors in the rat central nervous system, *J Comp Neurol* 365:289-305
80. Krebs-Thomson K und Geyer MA (1998): Evidence for a functional interaction between 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptors in rats, *Psychopharmacology* 140:69-74
81. Kritzer MF, Innis RB, Goldman-Rakic PS (1990): Regional distribution of cholecystokinin binding sites in macaque basal ganglia determined by in vitro receptor autoradiography, *Neuroscience* 38(1):81-92
82. Lallement J-C, Galleyrand J-C, Lima-Leite A-C, Fulcrand P, Martinez J (1994): Gastrin<sub>13</sub> and C-terminal octapeptide of cholecystokinin are differently coupled to G-proteins in guinea-pig brain membranes, *Eur J Pharmacol* 267:297-305
83. Lamour Y, Dutar P, Jobert A (1983): Effects of neuropeptides on rat cortical neurons: laminar distribution and interaction with the effect of acetylcholine, *Neuroscience* 10:107-117
84. Leibowitz SF, Weiss GF, Suh JS (1990): Medial hypothalamic nuclei mediate serotonin's inhibitory effect on feeding behavior, *Pharmacol Biochem Behav* 37(4):735-742
85. Maswood N und Uphouse L (1997): Modulation of the behavioral effects of 8-OH-DPAT by estrogen and DOI, *Pharmacol Biochem Behav* 58(4):859-866
86. Matozaki T, Göke B, Tsunoda Y, Rodriguez M, Martinez J, Williams JA (1990): Two functionally distinct cholecystokinin receptors show different modes of actions on Ca<sup>2+</sup> mobilization and phospholipid hydrolysis in isolated rat pancreatic acini, *J Biol Chem* 265(11):6247-6254
87. Maurel S, De Vry J, De Beun R, Schreiber R (1999): 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub>/5-HT<sub>1B</sub> receptors are differentially involved in alcohol preference and consummatory behavior in cAA rats, *Pharmacol Biochem Behav* 62(1):89-96

88. McBride PA, Anderson GM, Mann JJ (1990): Serotonin in autism, Kapitel 3:49-68, In: Coccaro EF und Murphy DL (Hrsg.): Serotonin in major psychiatric disorders, American Psychiatric Press Inc., Washington DC-London
89. McGeorge AJ und Faull RLM (1989): The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat, *Neuroscience* 29(3):503-537
90. Mengod G, Palacios JM, Wiederhold KH, Hoyer D (1997): 5-hydroxytryptamine receptor histochemistry: comparison of receptor mRNA distribution and radioligand autoradiography in the brain: Kapitel 8:213-237, In: Baumgarten HG und Göthert M(Hrsg.): Serotonergic neurons and receptors in the CNS, *Handbook of Exp Pharmacol* 129, Springer-Verlag, Berlin
91. Mercer LD und Beart PM (1997): Histochemistry in rat brain and spinal cord with an antibody directed at the cholecystokinin A receptor, *Neurosci Lett* 225:97-100
92. Meyer DK und Protopapas Z (1985): Studies on cholecystokinin-containing neuronal pathways in rat cerebral cortex and striatum, *Ann N Y Acad Sci* 448:133-143
93. Morales M und Bloom FE (1997): The 5-HT<sub>3</sub> receptor is present in different subpopulations of GABAergic neurons in the rat telencephalon, *J Neurosci* 17:3157-3167
94. Morino P, Mascagni F, McDonald A, Hökfelt T (1994): Cholecystokinin corticostriatal pathway in the rat: evidence for bilateral origin from medial prefrontal cortical areas, *Neuroscience* 4:939-952
95. Mosconi M, Chiamulera C, Recchia G (1993): New anxiolytics in development, *Int J Clin Pharmacol Res* 13(6):331-344
96. Murphy DL, Mellow AM, Sunderland T, Aulakh CS, Lawlor BL, Zohar J (1990): Strategies for the study of serotonin in humans, Kapitel 1:1-26, In: Coccaro EF und Murphy DL (Hrsg.): Serotonin in major psychiatric disorders, American Psychiatric Press Inc., Washington DC-London
97. Mutschler E (1991): Arzneimittelwirkungen – Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 6.Auflage, Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart
98. Ng NK, Lee HS, Wong PTH (1999): Regulation of striatal dopamine release through 5-HT<sub>1</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptors, *J Neurosci Res* 55:600-607
99. Orosco M, Gourch A, Cohen Y, Jacquot C. (1990): Cholecystokinin-induced variations in hypothalamic serotonergic system of the “cafeteria“ rat, *Brain Res Bull* 25(6):949-952
100. Palacios JM, Waeber C, Hoyer D, Mengod G (1990): Distribution of serotonin receptors, *Ann NY Acad Sci* 600:36-52
101. Parent A (1990): Extrinsic connections of the basal ganglia, *Trends Neurosci* 13:254-258

102. Paudice P und Raiteri M (1991): Cholecystokinin release mediated by 5-HT<sub>3</sub> receptors in rat cerebral cortex and nucleus accumbens, *Br J Pharmacol* 103:1790-1794
103. Paxinos G und Watson C (1986): The rat brain in stereotaxic coordinates, 2.Auflage, Academic Press, San Diego-New York
104. Pazos A, Cortès R, Palacios JM (1985): Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. II. Serotonin-2 receptors, *Brain Res* 346:231-249
105. Pazos A und Palacios JM (1985): Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. I. Serotonin-1 receptors, *Brain Res* 346:205-230
106. Percheron G, Yelnik J, Francois C (1984): A Golgi analysis of the primate globus pallidus. III. spatial organization of the striato-pallidal complex, *J Comp Neurol* 227(2):214-227
107. Povlock SL und Amara SG (1997): The structure and function of norepinephrine, dopamine, and serotonin transporters, Kapitel 1:1-28, In: Reith MEA (Hrsg.): Neurotransmitter transporters – structure, function, and regulation, Humana Press, Totowa-New Jersey
108. Qian JM, Rowley WH, Jensen RT (1993): Gastrin and CCK activate phospholipase C and stimulate pepsinogen release by interacting with two distinct receptors, *Am J Physiol* 264:718-727
109. Rex A und Fink H (1998): Effects of cholecystokinin-receptor agonists on cortical 5-HT release in guinea pigs on the X-maze, *Peptides* 19(3):519-526
110. Rex A, Marsden CA, Fink H (1997): Cortical 5-HT-CCK-interactions and anxiety-related behaviour of guinea pigs: a microdialysis study, *Neurosci Lett* 228(2):79-82
111. Roy A, Virkunen M, Linnoila M (1990): Serotonin in suicide, violence and alcoholism, Kapitel 8:185-208, In: Coccaro EF und Murphy DL (Hrsg.): Serotonin in major psychiatric disorders, American Psychiatric Press Inc., Washington DC-London
112. Ruat M, Traiffort E, Arrang JM, Tardivel-Lacombe J, Diaz J, Leurs R, Schwartz JC (1993a): A novel rat serotonin (5-HT<sub>6</sub>) receptor: molecular cloning, localization and stimulation of cAMP accumulation, *Biochem Biophys Res Commun* 193: 268-276
113. Ruat M, Traiffort E, Leurs R, Tardivel-Lacombe J, Diaz J, Arrang JM, Schwartz JC (1993b): Molecular cloning, characterization and localization of a high-affinity serotonin receptor (5-HT<sub>7</sub>) activating cAMP formation, *Proc Natl Acad Sci USA* 90:8547-8551
114. Sarhan H, Cloez-Tayarani I, Massot O, Fillion M-P, Fillion G (1999): 5-HT<sub>1B</sub> receptors modulate release of [<sup>3</sup>H]dopamine from rat striatal synaptosomes, *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 359:40-47

115. Schiffmann SN und Vanderhaeghen JJ (1991): Distribution of cells containing mRNA encoding cholecystokinin in the rat central nervous system, *J Comp Neurol* 304:219-233
116. Schmitz D, Empson RM, Heinemann U (1995): Serotonin and 8-OH-DPAT reduce excitatory transmission in rat hippocampal area CA1 via reduction in presumed presynaptic  $\text{Ca}^{+}$  entry, *Brain Res* 701:249-254
117. Scrogin KE, Johnson AK, Schmid HA (1998): Multiple receptor subtypes mediate the effects of serotonin on rat subfornical organ neurons, *J Cell Biol* 275(6):2035-2042
118. Shinohara S und Kawasaki K (1997): Electrophysiological changes in rat hippocampal pyramidal neurons produced by cholecystokinin octapeptide, *Neuroscience* 78(4):1005-1016
119. Smith AD und Bolam JB (1990): The neural network of the basal ganglia as revealed by the study of synaptic connections of identified neurones, *Trends Neurosci* 13:259-265
120. Stefani A, Surmeier DJ, Kitai ST (1990): Serotonin enhances excitability in neostriatal neurons by reducing voltage-dependent potassium currents, *Brain Res* 529:354-357
121. Stein C, Davidowa H, Albrecht D (2000): 5-HT<sub>1A</sub> receptor-mediated inhibition and 5-HT<sub>2</sub> as well as 5-HT<sub>3</sub> receptor-mediated excitation in different subdivisions of the rat amygdala, *Synapse* 38(3):328-337
122. Strahlendorf JC, Lee M, Strahlendorf HK (1984): Effects of serotonin on cerebellar Purkinje cells are dependent on the baseline firing rate, *Exp Brain Res* 56:50-58
123. Takahashi H, Takada Y, Nagai N, Urano T, Takada A (2000): Serotonergic neurons projecting to hippocampus activate locomotion, *Brain Res* 869:194-202
124. Törk I (1990): Anatomy of the serotonergic system, *Ann NY Acad Sci* 600:9-35
125. To C und Bagdy G (1999): Anxiogenic effect of central CCK administration is attenuated by chronic fluoxetine or ipsapirone treatment, *Neuropharmacology* 38(2):279-282
126. Vandermaelen CP, Bonduki AC, Kitai ST (1979): Excitation of caudate-putamen neurons following stimulation of the dorsal raphe nucleus in the rat, *Brain Res* 175:356-361
127. Van Megen HJGM, Westenberg HGM, den Boer JA, Slaap B, Scheepmakers A (1997): Effect of the selective serotonin reuptake inhibitor fluvoxamin on CCK-4 induced panic attacks, *Psychopharmacology* 129:357-364
128. Waeber C und Palacios JM (1994): Binding sites for 5-hydroxytryptamine-2 receptor agonists are predominantly located in striosomes in the human basal ganglia, *Mol Brain Res* 24:199-209
129. Wang Y, Ramage AG, Jordan D (1997): In vivo effects of 5-Hydroxytryptamin receptor activation on rat Nucleus tractus solitarius neurones excited by vagal C-fibre afferents, *Neuropharmacology* 36(4/5):489-498

130. Ward RP, Hamblin MW, Lachowicz JE, Hoffman BJ, Sibley DR, Dorsa DM (1995): Localization of serotonin subtype 6 receptor messenger RNA in the rat brain by in situ hybridization histochemistry, *Neuroscience* 64:1105-1111
131. Ward RP und Dorsa DM (1996): Colocalization of serotonin receptor subtypes 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2C</sub> and 5-HT<sub>6</sub> with neuropeptides in rat striatum, *J Comp Neurol* 370:405-414
132. Wetzel K (1997): Aktivitätsmodulation striataler Neurone durch Cholecystokinin, CCK-Agonisten und Glutamat: eine elektrophysiologische Studie, Med. Diss., Berlin
133. Williams S, Serafin M, Mühlethaler M, Bernheim L (1998): Short communication: The serotonin inhibition of high-voltage-activated calcium currents is relieved by action potential-like depolarizations in dissociated cholinergic nucleus basalis neurons of the guinea-pig, *Eur J Neurosci* 10:3291-3294
134. Wilson CJ (1993): The generation of natural firing patterns in neostriatal neurons, In: Arbuthnott GW und Emson PC (Hrsg.): *Prog Brain Res* 99:277-297
135. Wilson CJ und Kawaguchi Y (1996): The origin of two-state spontaneous membrane potential fluctuations of neostriatal spiny neurons, *J Neurosci* 16 (7):2397-2410
136. Wolf WA und Schutz LJ (1997): The serotonin 5-HT<sub>2C</sub> receptor is a prominent serotonin receptor in basal ganglia: evidence from functional studies on serotonin-mediated phosphoinositide hydrolysis, *J Neurochem* 69(4):1449-1458
137. Wu T und Wang HL (1996): The excitatory effect of cholecystokinin on rat neostriatal neurons: ionic and molecular mechanisms, *Eur J Pharmacol* 307:125-132
138. You Z-B, Herrera-Marschitz M, Brodin E, Meana JJ, Morino P, Hökfelt T, Silveira R, Goigny M, Ungerstedt U (1994): On the origin of striatal cholecystokinin release: studies with in vivo microdialysis, *J Neurochem* 62:76-85
139. Zippel U, Heidel E, Davidowa H (1999): Action of cholecystokinin and serotonin on lateral hypothalamic neurons of rats, *Eur J Pharmacol* 379:135-140
140. Zohar J, Murphy DL, Zohar-Kadouch RC, Pato MAT, Wozniak KM, Insel TR (1990): Serotonin in obsessive-compulsive disorder, Kapitel 5:99-126, In: Coccaro EF und Murphy DL (Hrsg.): *Serotonin in major psychiatric disorders*, American Psychiatric Press Inc., Washington DC-London

## Liste bisheriger Veröffentlichungen und Kongressbeiträge

1. Davidowa H, Vierig G, Wilms K (1998): Effects of cholecystokinin, serotonin and its iontophoretical coadministration on thalamic neurones in rats, *Pflugers Arch* 435 (6): R 135
2. Vierig G, Wilms K, Krüger S, Davidowa H (1998): Study on the interaction of serotonin and cholecystokinin in the neostriatum of rats, In: Elsner N und Wehner R (Hrsg.): Göttingen Neurobiology Report 1998 Vol. II: 612, Thieme Verlag, Stuttgart-New York
3. Wilms K, Krüger S, Vierig G, Davidowa H (1998): The 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist 8-OH-DPAT can affect neostriatal neurones comparable to serotonin, In: Elsner N und Wehner R (Hrsg.): Göttingen Neurobiology Report 1998 Vol. II: 610, Thieme Verlag, Stuttgart-New York
4. Wilms K, Vierig G, Davidowa H (2001): Interactive effects of cholecystokinin-8S and various serotonin receptor agonists on the firing activity of neostriatal neurons in rats, *Neuropeptides* 35 (5/6):257-270



Hiermit erkläre ich an Eides statt,  
die hier vorliegende Arbeit selbstständig, ohne die Hilfe Dritter, und unter Hinzuziehung der im  
Literaturverzeichnis angegebenen Quellen verfasst zu haben.  
Des Weiteren versichere ich, dass diese Arbeit keine Kopien anderer Studien enthält.

.....

Karina Wilms

## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich Frau Prof. Dr. H. Davidowa meinen besonderen Dank für die Ermöglichung dieser Arbeit und die Überlassung des Themas dieser Studie aussprechen. Ihre ständige Bereitschaft zu jeglicher Unterstützung, ihre konstruktiven Kritiken zu verschiedenen Gesichtspunkten dieser Arbeit, ihr aufmerksames Durchlesen des Manuskriptes sowie ihre außerordentliche Geduld bedürfen dabei besonderer Erwähnung.

Frau Prof. Dr. U. Zippel sei für ihre Mithilfe bei statistischen Auswertungen sowie für ihre Anregungen, hinsichtlich dieser Arbeit, gedankt.

Besonders möchte ich hierbei Frau Seider und Herrn R. Schneider, für ihre hervorragende Versuchsvorbereitung, ihre Mitwirkung bei den Versuchen und bei der Datenauswertung, danken.

Für die Bereitstellung einiger Daten möchte ich mich ebenfalls bei Nora Jodl, Sandra Krüger und Gernot Vierig bedanken.

Auch Herrn Dr. H.-J. Gabriel und Herrn Dr. H. Siegmund sei für die Unterstützung bei technischen Problemen gedankt.

Abschließend möchte ich Frau Dr. D. Albrecht für die Bereitstellung der Software, Frau K. Berlin, für die Überarbeitung einiger Abbildungen, sowie auch allen nicht genannten Mitarbeitern des Johannes-Müller-Institutes für Physiologie der Medizinischen Fakultät Charité der Humboldt-Universität zu Berlin meinen Dank bekunden.

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AMPA	$\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazol (Glutamatrezeptoragonist)
cAMP	zyklisches 3', 5'-Adenosinmonophosphat
CCK	Cholecystokinin
CCK-8S	sulfatiertes Cholecystokinin-Oktapeptid
DAG	Diacylglycerol
DOI	( $\pm$ )-2,5-Dimethoxy-4-iodoamphetamin-hydrochlorid (5-HT <sub>2A/2C</sub> -Rezeptoragonist)
GA	Grundaktivität
GABA	$\gamma$ -Aminobuttersäure
5-HT	Serotonin
Imp./s	Impulse pro Sekunde
i.p.	intraperitoneal
IP <sub>3</sub>	Inositoltriphosphat
LANT-6	Lysin-Asparagin-Neurotensin
MW	Mittelwert
NADPH	reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat
NMDA	N-Methyl-D-aspartat (Glutamatrezeptoragonist)
NO	Stickstoffmonoxid
8-OH-DPAT bzw. DPAT	( $\pm$ )-2-Dipropyl-amino-8-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydro- naphtalen-hydrobromid (5-HT <sub>1A/7</sub> -Rezeptoragonist)
p	Irrtumswahrscheinlichkeit bei statistischen Testverfahren
r	Spearman'scher Korrelationskoeffizient
SAW	Standardabweichung
S-UH 301 bzw. S-UH	S(-)-5-Fluoro-8-hydroxy-2-dipropylamino-1,2,3,4- tetrahydronaphtalen-hydrochlorid (5-HT <sub>1A</sub> -Rezeptor-antagonist)
WAY 100635 bzw. WAY	N-[2-[4-(2-Methoxy-phenyl)-1-piperazinyl]ethyl]-N-2- pyridinylcyclohexan-carboxamid-maleat (5-HT <sub>1A</sub> -Rezeptor-antagonist)
WT	Wilcoxon(Rangsummen)-Test